RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol XXII - N. 3 - Settembre 1961

STUDI SULLA BIOLOGIA DI *E. HISTOLYTICA*. V. OSSERVAZIONI SULL'ATTIVITA' ENZIMATICA DI STIPITI DI *E. HISTOLYTICA* IN COLTURA.

E. MIGNANI e J. BICKEL (*)

E' stata dimostrata sperimentalmente l'elaborazione, da parte di sospensioni lavate di trofozoiti di *E. histolytica*, di amilasi, aldolasi e lattico-deidrogenasi. Nelle stesse condizioni non è stata osservata l'elaborazione di fosfatasi alcalina, mentre è stata invece messa in evidenza la presenza di una attività fosfatasica alcalina endocellulare.

Scarse e frammentarie sono ancora le nostre conoscenze sulla biologia di *E. histolytica;* il principale ostacolo, infatti, alle ricerche intraprese in questo campo è rappresentato, come è noto, dalla impossibilità di operare su colture pure dato che la sopravvivenza « in vitro » di *E. histolytica* è rigorosamente condizionata dall'associazione di una o più specie batteriche.

In questi ultimi anni, tuttavia, tali ricerche sono relativamente aumentate, poiché solo una migliore conoscenza della biologia del protozoo può permettere di affrontare con successo i complessi problemi della patogenesi e della chemioterapia specifica dell'amebiasi.

Un notevole contributo alla conoscenza della biologia di *E. histolytica* è stato senza dubbio fornito dai recenti studi sul metabolismo e sulle attività enzimatiche del protozoo.

Tali studi presentano, come si è detto, delle difficoltà proprio a causa della costante presenza di elementi batterici nelle colture dell'ameba; tuttavia, con particolari accorgimenti, è possibile ridurre le eventuali interferenze della flora associata, ottenendo risultati sufficientemente attendibili.

Riassumendo brevemente i risultati ottenuti dai diversi AA. è possibile delineare, sia pure in modo ancora assai incompleto, un quadro sintetico delle attività enzimatiche esplicate da *E. histolytica*.

I) *Enzimi proteolitici.*

E' stata concordemente ammessa l'elaborazione di *gelatinasi* da parte di sospensioni lavate di amebe (Rees e coll., 1953; Harinasuta e Maegraith 1958; Naka-

(*) *Istituto di Igiene « A. Di Vestea » dell'Università di Pisa* (Direttore inc.: Prof. G. Santopadre).

mura e Edwards, 1959); tale enzima sarebbe presente anche in estratti e criolisati amebici (Neal; Harinasuta e Maegraith).

Neal (1956) ha osservato che lo stesso enzima capace di liquefare la gelatina idrolizza anche la caseina e Nakamura ed Edwards (1959) hanno confermato la presenza di *caseasi* in ceppi di *E. histolytica*.

E' stato, inoltre, osservato che *E. histolytica* elabora *glutaminasi* (Nakamura e Goldstein), mentre non produrrebbe *collagenasi* (Nakamura e Klein).

II) *Enzimi saccarolitici.*

Fra gli enzimi saccarolitici particolarmente studiata è l'*amilasi*. Già Hopkins e Warner (1946), per primi, osservarono l'idrolisi endocellulare dell'amido ingerito dal protozoo. In seguito Hallmann e Delamater (1953), Kun e Bradin (1956), Entner e Anderson (1954) hanno dimostrato sperimentalmente con differenti metodiche come sospensioni lavate di amebe siano capaci di idrolizzare rapidamente l'amido solubile; mentre Baernstein e coll. (1954) hanno dimostrato l'attività amilasica in estratti acetonici e Hilker e White (1957) in lisati di amebe, realizzando anche valutazioni quantitative.

Hilker e White (1957), confermando precedenti ricerche di Entner e Hall, hanno inoltre dimostrato la presenza di una *maltasi*, mentre non si avrebbe né *saccarasi* né *lattasi*.

Recentemente Hilker e White (1959), svolgendo un interessante studio sul metabolismo degli idrati di carbonio e in particolare della glicolisi operata da *E. histolytica*, hanno dimostrato la presenza di *fosfoesoisomerasi, fosfoesochinasi, aldolasi, glucoso-6-fosfofatodeidrogenasi*. Nelle stesse condizioni non è stata invece riscontrata la presenza di *3-fosfogliceraldeidedeidrogenasi, α-glicerofosfatodeidrogenasi, 6-fosfogluconatodeidrogenasi*.

III) *Altri enzimi.*

Un enzima particolarmente studiato in *E. histolytica* è la *fosfatasi*. Entner e Hall (1955) hanno osservato una notevole attività fosfatasica da parte di sospensioni amebiche; Blumenthal e coll. (1955) hanno dimostrato che *E. histolytica* è capace di elaborare due tipi di fosfomonoesterasi: uno attivo a pH 4,6-4,8 l'altro a pH 9,4-9,6. La presenza di detti enzimi è stata messa in evidenza anche con metodi citochimici, che hanno permesso di individuarne la localizzazione esatta nel corpo cellulare: nel nucleo la fosfatasi acida; nell'endoplasma e nel nucleo, particolarmente in corrispondenza della membrana nucleare e del cariosoma, la fosfatasi alcalina (Carrera e Changus; Balamuth; Ray e Sen Gupta; Hara e coll.).

Con l'ausilio dei metodi citochimici Hara e coll. hanno inoltre osservato la presenza di *perossidasi* nell'ecto e nell'endoplasma.

Per quanto riguarda infine l'elaborazione di *ialuronidasi*, enzima particolarmente connesso con l'attività patogena di *E. histolytica*, i pareri sono discordi. Bradin (1953) avrebbe osservato la produzione di tale enzima da parte di trofozoiti prelevati da ascessi epatici sperimentali nell'hamster, ma non da parte di trofozoiti provenienti da colture « in vitro »; mentre invece De Lamater e coll. (1954) non sarebbero riusciti in nessun caso ad osservare la elaborazione di ialuronidasi da parte dell'ameba. Del tutto recentemente Jarumilinta e Maegraith (1961) hanno dimostrato la presenza di ialuronidasi in trofozoiti di stipiti normalmente patogeni per la cavia, anche se provenienti da colture « in vitro ».

* * *

Da quanto si può desumere da questa breve sintesi bibliografica rimangono tuttora molti punti da chiarire sia a proposito del corredo enzimatico di *E. histolytica*, sia per quanto riguarda le correlazioni reciproche fra le diverse attività enzimatiche.

Pertanto ci è sembrato interessante riprendere in esame l'argomento, allo scopo di approfondire in particolare lo studio delle attività enzimatiche interessanti il metabolismo degli idrati di carbonio.

MATERIALI E METODI USATI

Stipiti studiati

Per questo studio abbiamo utilizzato sei stipiti di *E. histolytica* (P, F_{22}, Diamantidis, Lero, M, RG) della collezione dell'Istituto di Igiene dell'Università di Pisa, coltivati « in vitro » su terreno di Boeck e Drbohlav modificato.

Le caratteristiche biologiche di tali stipiti, nonché la flora microbica associata alle colture « in vitro », sono stati oggetto di una dettagliata indagine, svolta recentemente da Buonomini e Mignani (1960), alla quale rimandiamo.

Raccolta e lavaggio dei trofozoiti

Il sedimento di diversi tubi di coltura, incubati a 37°C per 48 h., viene raccolto sterilmente in un provettone centrifugato a 1000 g.p.m. per 10 min., così da separare dalle amebe la maggior parte della flora microbica, e quindi lavato, per almeno tre volte, con soluzione fisiologica sterile, centrifugando ogni volta a 1000 g.p.m. per non più di un quarto d'ora. La sospensione densa di trofozoiti, ottenuta dopo l'ultima centrifugazione, viene controllata in camera di Nageotte e diluita fino ad avere la concentrazione richiesta.

Controlli

Abbiamo ritenuto necessario valutare comparativamente l'attività enzimatica della flora batterica associata alle nostre colture, allo scopo di poter escludere che i valori delle varie attività enzimatiche, osservate nelle colture di *E. histolytica*, fossero riferibili ai pochi elementi batterici eventualmente ancora presenti dopo i lavaggi. Pertanto tutte le prove sono state sempre allestite in doppio, usando come controllo per ogni ceppo il liquido surnatante dopo il primo lavaggio.

Dimostrazione della amilasi

Per la dimostrazione della amilasi ci siamo serviti del metodo di Wolgemuth, basato sulla valutazione colorimetrica dell'idrolisi dell'amido, operato dall'enzima elaborato da quantità scalari di amebe.

Dimostrazione dell'aldolasi

Per la dimostrazione dell'aldolasi abbiamo seguito il metodo di Sibley e Lehninger, modificato e semplificato da Mannucci e Tiezzi.

Dimostrazione della latticodeidrogenasi

Abbiamo seguito il metodo di White e Wroblesky basato sulla valutazione colorimetrica della quantità di acido piruvico che viene ridotto ad acido lattico. L'acido piruvico non ridotto, reagendo con la 2-4-dinitrofenilidrazina, forma fenilidrazone il quale, in ambiente alcalino, dà una colorazione misurabile colorimetricamente.

Dimostrazione della fosfatasi alcalina

A) Determinazione biochimica

Abbiamo seguito il metodo di Fiske e Subarow, modificato da Bodansky, basato sulla valutazione colorimetrica del fosforo liberato per via enzimatica da una soluzione di glicocerofosfato.

B) Determinazione citochimica

Per la dimostrazione della fosfatasi alcalina intracitoplasmatica abbiamo seguito il metodo di Gomori, modificato da Danielli.

Nei preparati di *E. histolytica* colorati con tale metodo le strutture citoplasmatiche e nucleari assumono un colore giallo, mentre i granuli dell'enzima appaiono bene evidenti colorati in nero. L'attività enzimatica è stata valutata soggettivamente con: +++, ++, +, —, secondo un criterio quantitativo all'osservazione microscopica.

RISULTATI OTTENUTI

Dall'esame dei risultati sperimentati, riportati nelle tabelle 1, 2 e 3 è possibile rilevare come i trofozoiti di *E. histolytica* siano capaci di esplicare:

a) una forte attività amilasica;
b) una notevole attività aldolasica;
c) una discreta attività latticodeidrogenasica;
d) una attività fosfatasica alcalina endocellulare.

Una valutazione comparativa fra trofozoiti di *E. histolytica* e flora batterica associata nell'esplicazione di tali attività enzimatiche ha dimostrato che:

I) Le attività amilasica, aldolasica e latticodeidrogenasica sono sensibilmente più intense nelle colture lavate di *E. histolytica* che nelle sospensioni della flora associata. Non vi è dubbio, pertanto, che tali attività vengano esplicate da *E. histolytica* (vedi tabelle 1 e 2).

TABELLA 1

Idrolisi dell'amido operata da trofozoiti lavati di E. histolytica *e dalla flora associata in un'ora di incubazione a 37°C.*

Stipiti in esame	Trofozoiti di *E. histolytica* × cc.										N. germi × cc.					
	100.000	50.000	25.000	12.500	6.250	3.125	1.560	780	390	195	2×10^9	1×10^9	125×10^6	64×10^6	32×10^6	16×10^6
P	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	++	++	+	+	+	—
F_{22}	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	++	+	+	—	—	+
Diamantidis	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Lero	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	—	+	+	+	—	—	—
M	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	—	—	—
RG	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+	+	—	—	—

2) L'attività fosfatasica è risultata, invece, molto più intensa nella flora associata, ove si prendano in considerazione i valori ottenuti col metodo biochimico (vedi tabella 3).

Peraltro lo studio dei preparati colorati col metodo citochimico ha dimostrato la presenza di discrete quantità dell'enzima in parola sia nel nucleo che nell'endoplasma del trofozoita. La distribuzione dei granuli di enzima nel corpo cellulare del protozoo, pur presentando variazioni di ordine quantitativo da ceppo a ceppo e anche fra i singoli elementi di uno stesso stipite, mostra costanti caratteristiche di sede, con localizzazione elettiva:

a) nell'endoplasma, particolarmente in corrispondenza degli pseudopodi;
b) nel nucleo, particolarmente in corrispondenza della membrana perinucleare.

TABELLA 2

Attività aldolasica e latticodeidrogenasica di trofozoiti lavati di E. histolytica *e della flora associata.*

Stipiti in esame	Unità aldolasiche		Unità latticodeidrogenasiche	
	Trofozoiti (80.000/cc)	Flora associata (2×10^9/cc)	Trofozoiti (80.000/cc)	Flora associata (2×10^9/cc)
P	28	0	12	6
F_{22}	24	3	8	7
Diamantidis	18	0	8	5
Lero	13	2	14	8
M	14	0	10	5
RG	15	4	11	4

TABELLA 3

Attività fosfatasica di trofozoiti lavati di E. histolytica *e della flora associata, dimostrata con metodo biochimico (A) e con metodo citochimico (B).*

Stipiti in esame	(A) Metodo biochimico		(B) Metodo citochimico		
	Trofozoiti (20000/cc)	Flora associata (1.10^9/cc)	Ectoplasma	Endoplasma	Nucleo
P	3,4	15	—	+++	+++
F_{22}	2,7	13,9	—	++	+++
Diamantidis	2,3	16,9	—	+++	++
Lero	0,2	13,6	—	+	++
M	0,5	17,6	—	++	++
RG	2,3	9,7	—	+	++

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Particolare interesse per lo studio della biologia di *E. histolytica* è la valutazione epicritica e la correlazione reciproca tra le varie attività enzimatiche da noi rilevate.

I) L'attività amilasica, già dimostrata in precedenza anche da altri AA., conferma la capacità di *E. histolytica* di attaccare ed utilizzare quale prima fonte energetica l'amido contenuto nella polvere di riso. Tale attitudine dell'ameba era già ammessa in pratica per il fatto che l'amido di riso si dimostra elemento indispensabile dei terreni di coltura, al fine di ottenere una buona crescita del protozoo.

Nella presente ricerca abbiamo osservato l'idrolisi dell'amido sino ad acrodestrine, dato che il metodo colorimetrico da noi utilizzato non permetteva ulteriori risultati. Hilker e White, utilizzando, invece, l'indagine cromatografica, hanno potuto chiaramente dimostrare come l'amido venga rapidamente idrolizzato da *E. histolytica* fino a maltosio e a glucosio.

Che l'attività amilasica sia invero molto netta è inoltre dimostrato dal fatto che essa sia esplicata in modo apprezzabile da concentrazioni assai basse di trofozoiti e in misura del tutto trascurabile dalla flora associata.

Sembra pertanto ulteriormente confermata la supposizione che l'ameba derivi dall'amido il glucosio che poi utilizzerebbe sia per la produzione immediata di energia, sia per l'accumulo di materiale di riserva sotto forma di glicogeno.

II) Per quanto riguarda il metabolismo intermedio del glucosio è stato possibile evidenziare nelle nostre esperienze sia una aldolasi che una latticodeidrogenasi in *E. histolytica*. Tali attività enzimatiche sono risultate positive nelle sospensioni di trofozoiti lavati dell'ameba, mentre sono pressoché assenti nella flora associata.

Indubbiamente il reperto di un'attività aldolasica e latticodeidrogenasica chiarisce due ulteriori passaggi della modalità di utilizzazione del glucosio da parte di *E. histolytica*.

Per quanto riguarda l'attività latticodeidrogenasica in particolare, non ci risulta che essa sia stata in precedenza direttamente dimostrata nelle colture di *E. histolytica*, anche se la sua presenza veniva implicitamente ammessa dal reperto di acido lattico come prodotto terminale del metabolismo di glucosio e maltosio (Entner e Anderson, 1954 *et al.*).

III) I risultati delle nostre indagini hanno dimostrato che *E. histolytica* è dotata di una notevole attività fosfatasica alcalina endocellulare, bene evidenziabile col metodo citochimico di Gomori mod. Danielli, il quale ci ha permesso di localizzare la presenza dell'enzima nelle varie formazioni cellulari e precisamente: nel nucleo in corrispondenza della membrana perinucleare, nell'endoplasma particolarmente in corrispondenza degli pseudopodi. Tali localizzazioni corrispondono esattamente a quelle osservate anche da Ray e Sen Gupta.

La localizzazione in corrispondenza del nucleo potrebbe essere riferita all'attività mitotica, in analogia agli studi di Deane e Dempsen, i quali osservarono che i cromosomi di cellule in attività mitotica mostrano una spiccata attività glucosio-1-fosfatasica con reazione alcalina. La localizzazione endoplasmatica dell'enzima è riferibile, molto attendibilmente, ai mitocondri, che, come è noto, mal si evidenziano con i comuni metodi di colorazione.

L'attività fosfatasica alcalina di *E. histolytica* se ricercata con il metodo biochimico, è risultata, invece, nettamente inferiore a quella esplicata dalla flora batterica associata.

Tale fatto ci sembra di difficile interpretazione. Si potrebbe avanzare

l'ipotesi che l'attività fosfatasica di *E. histolytica* si realizzi unicamente nell'interno del citoplasma, dimostrando la capacità del protozoo di esplicare un meccanismo catabolico intracellulare, a differenza di quanto avviene di norma per i batteri; come, pure, si potrebbe pensare che l'ameba utilizzi la notevole attività fosfatasica batterica per metabolizzare sostanze presenti nel terreno, che non sarebbe capace di assorbire direttamente.

Tali ipotesi meritano ovviamente un ulteriore approfondimento.

I risultati da noi ottenuti in questa prima serie di esperienze, lungi da essere considerati completi e definitivi, ci permettono tuttavia di giungere ad alcune conclusioni:

1) *E. histolytica* « in vitro » si serve come principale fonte energetica degli idrati di carbonio che essa deriva, per progressiva idrolisi, dall'amido di riso.

2) L'importanza dei carboidrati ai fini del ricambio energetico di *E. histolytica,* già confermato dalla più o meno stretta dipendenza dell'ameba da un metabolismo anaerobico, rende evidente come essa debba essere fornita di un ben sviluppato meccanismo glicolitico e fermentativo. Il fatto che *E. histolytica* sia risultata provvista di enzimi quali aldolasi e latticodeidrogenasi chiarisce due ulteriori passaggi della utilizzazione del glucosio da parte del protozoo.

3) L'osservazione in *E. histolytica* di una netta attività fosfatasica alcalina, accanto ad una modestissima elaborazione dello stesso enzima nel terreno, è un fatto di difficile interpretazione, meritevole di un ulteriore approfondimento.

STUDIES ON BIOLOGY OF *E. HISTOLYTICA:* V. OBSERVATIONS ON ENZYMATIC ACTIVITY OF *E. HISTOLYTICA* STRAINS IN COLTURE.

Activities of the following enzymes has been demonstrated in cell free suspensions of six strains of *E. histolytica:* amylase, aldolase, lactic dehydrogenase. No activity of any of the enzymes tested was detected in the bacterial supernate used as a control in each case. Alkaline phosphatase determinations showed no production of this enzyme in the trophozoïtes suspension, but a clear alkaline phosphatase activity inside the protoplasm of the protozoon. Alkaline phosphatase activity in *E. histolytica* is localized *a)* in the nucleus, particularly in the nuclear membrane; *b)* in the endoplasm, particularly in the pseudopoda.

BIBLIOGRAFIA

BAERNSTEIN H. D., REES C. W. e REARDON L. V. (1954): Symbiosis in cultures of *E. histolytica* and a single species of bacteria. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 3:* 839.

BALAMUTH W (1950): Acid phosphatase stining reactions in intestinal amebae. *J. Parasitol.* (suppl), *36,* 37.

BLUMENTHAL H., MICHAELSON J. B., DeLAMATER J. N. (1955): Some aspects of the phosphomonoesterase activity of *E. histolytica. Exper. Parasit., 4,* 201.

BODANSKI J. (1937): Methods on determination of phospatase activity. *Am. J. clin. Path. Tech. supp. 1,* 51.

BRADIN J. L. jr. (1953): Studies on the production of hyaluronidase by *E. histolytica. Exper. Parasit. 2,* 230.

BUONOMINI G., DE BLASI R. e RICCIARDI M. L. (1954): Studi sulla biologia di *E. histolytica.* I) Osservazioni e rilievi sulla coltivazione di stipiti autoctoni. *Riv. di Parass., 15,* 285.

BUONOMINI G. e MIGNANI E. (1960): Studi sulla biologia di *E. histolytica.* IV) Osservazioni sulla flora associata nelle colture. *Boll. Ist. Sier. Mil., 39.*

CARRERA G. M. e CHAUNG C. W. (1948): Demonstration of acid phosphatase in *E. histolytica. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 68,* 610.

DANIELLI J. e G. GOMORI in LILLIE R. P. (1954): Histopathologic technic and pratical Histochemistry. Blakiston division - Mc. Greew. Hill. N. York.

DeLAMATER J. N., MICHAELSON J. B., HALLMANN F. A. e BLUMENTHAL H. (1954): An investigation into hyaluronidase as a factor in the mechanism of tissue invasion by *E. histolytica. Am. J. Trop. Med. Hyg., 3,* 1.

DEMPSEY E. W., DEANE H. W. (1947): Study on phosphatase activity *J. cell. Comp. Physiol. 27,* 851.

ENTNER N. e ANDERSON H. H. (1954): Lactic and succinic acid formation by *E. histolytica* « in vitro ». *Exptl. Parassit., 3,* 234.

ENTNER N. e HALL N. C. (1955): Some aspects of carbohydrate metabolism in *E. histolytica. Exptl. Parasit., 4,* 92.

HALLMANN F. A. e DELAMATER J. N. (1953): Demonstration of amylolytic activity in cultures of *E. histolytica. Exper. Parasit., 2,* 170.

HARA K., OKA S., SAWADA T. e FUSE M. (1954): Cytochemical observation on *E. histolytica.* (1) On the research into enxymes and fatty substances in *E. histolytica.* (2) On the research into carbohydrates in *E. histolytica. Gunma J. Med. Sci. Maebashi, 3,* 249.

HARINASUTA C. e MAEGRAITH B. G. (1958): The demonstration of proteolytic enzyme activity of *E. histolytica* by the use of photographic gelatin film. *Ann. Trop. Med. Parasitol., 52,* 508.

HILKER D. M., SHERMAN H. J. e WHITE A. G. C. (1957): Starch hydrolysis by *E. histolytica. Exper. Parasit., 6,* 459.

HILKER D. M. e WHITE A. G. C. (1959): Some aspects of the carbohydrate metabolism of *E. histolytica. Exper. Parasit., 8,* 539.

HOPKINS D. L. e WARNER K. L. (1948): Functional cytology of *E. histolytica. J. Parasitol., 32* (suppl), 165.

KUN E., BRADIN J. L. jr. e DECHARY J. M. (1956): Correlation between CO_2 and H_2S production by *E. histolytica. Biochim. & Biophys. Acta, 19,* 153.

JARUMILINTA R. e MAEGRAITH B. G. (1960): Hyaluronidase activity in stock cultures of *H. histolytica. Ann. Trop. Med. Parasit., 54,* 118.

NAKAMURA M. e GOLDSTEIN L. (1957): Occurence of glutaminase in *E. histolytica. Nature, 179,* 1134.

NAKAMURA M. e KLEIN L. (1957): Absence of collagenase activity in *E. histolytica. J. Parasitol., 43,* 88.

NAKAMURA M. e EDWARDS P. R. jr. (1959): Enzymes of *E. histolytica. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 100,* 403.

NAKAMURA M. e EDWARDS P. R. jr. (1959): Casease in *E. histolytica. Nature, 183,* 397.

NEAL R. A. (1956): Proteolytic enzymes in *E. histolytica. Nature, 178,* 599.

RAY H. N. e SEN GUPTA P. C. (1954): A cytochemical study of *E. histolytica. J. Indian Med. Ass., 23,* 529.

REES C. W., BAERNSTEIN H. D., REARDON L. V. e PHILLIPS B. P. (1959): Some interactions « in vitro » of *E. histolytica* and single species of microbial symbionts. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 2,* 1002

SIBLEY J. A., LEHINGER A. L. (1958): Determination of aldolase in animal tissues *J. Biol. Chem. 177,* 859.

WHITE L. P. (1956): Serum enzimes: serum lactic deidrogenase in miocardial infartum. *N. Eng. J. Med. 255,* 984.

WROBLESKY F. (1955): Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90,* 210.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 3 - Settembre 1961

MODIFICAZIONI, *IN VITRO*, DELLA SENSIBILITA' DI VARI STIPITI DI *E. HISTOLYTICA* PER ALCUNI ANTIBIOTICI (ACROMICINA, COLIMICINA E TERRAMICINA) (*).

L. Magaudda-Borzì e L. Pennisi (**)

Gli AA. studiano le modificazioni *in vitro* della sensibilità di quattro ceppi di E. *histolytica* per alcuni antibiotici (acromicina, colimicina e terramicina).

Dimostrano come sia possibile ottenere ceppi sia più resistenti che più sensibili dopo un trattamento più o meno lungo con l'antibiotico e come sul fenomeno della variazione della sensibilità ai farmaci la flora batterica giuochi, con tutta probabilità, un ruolo del tutto irrilevante.

Nella terapia delle malattie infettive un punto di importanza capitale è la capacità insita nei microrganismi patogeni di sviluppare una resistenza più o meno marcata ai chemioterapici e agli antibiotici. Mentre tale fenomeno è da tempo conosciuto ed è stato già ampiamente studiato per quanto riguarda gli Schizomiceti, poco si è indagato, invece, per i Protozoi.

E' nota, già, una chemioresistenza del *T. gambiense* verso la triparsamide e dei Plasmodi verso la chinina, paludrina e pirimetamina.

Fin dall'inizio del secolo si era, poi, notata clinicamente la possibilità della insorgenza di una resistenza al trattamento emetinico da parte di *Entamoeba histolytica;* ma solo nel 1926 Dobell e Laidlaw studiarono il problema sperimentalmente.

Tali AA., in base a prove eseguite « in vitro », concludevano che era impossibile ottenere ceppi di *E. histolytica* resistenti alla emetina.

Successivamente il problema veniva ripreso da Halawani (1930) e poi da Bonnin e Aretas (1938-1939) con la conclusione, del tutto opposta, che era, cioè, possibile creare « in vitro » ceppi di *E. histolytica* emetino-resistenti. L'argomento veniva, poi studiato da altri AA. con risultati contrastanti che si possono ricollegare alle due tesi originarie opposte di Dobell e Laidlaw da un lato e di Halawani dall'altro.

La discordanza dei risultati ottenuti dai vari AA. può essere, infatti, riportata alle scarse conoscenze sulla biologia del protozoo e, dall'altra, alle

(*) Comunicazione presentata al II Congresso Nazionale di Parassitologia Roma-L'Aquila, 17-21 maggio 1961).

(**) *Istituto di Igiene della Università di Messina* (Direttore: Prof. R. De Blasi).

difformità delle tecniche usate, come hanno già sottolineato Magaudda-Borzì e Pennisi a proposito dei problemi interpretativi delle prove di amebicidia *in vitro*.

Ci appare, pertanto, opportuno sintetizzare le modalità di tecnica seguite dai vari AA. e il loro giudizio sulla possibilità o meno di ottenere *in vitro* ceppi di *E. histolytica* resistenti a diverse sostanze.

Dobell e Laidlaw (1926) posero trofozoiti di *E.histolytica* a contatto con emetina, al titolo di 1:50.000, per un mese; tentativi di subcolture a concentrazioni più elevate fallirono costantemente portando gli AA. a concludere che « è impossibile ottenere un ceppo di *E.histolytica* il quale aumenti la resistenza all'emetina ».

Dobell (1947) tornò a negare decisamente la possibilità di ottenere, « in vitro », un aumento della resistenza e spiegò i risultati positivi ottenuti da Halawani e da Bonnin e Aretas con il fatto che tali AA. usavano nelle loro esperienze terreni difasici. Dobell, infatti, dimostrò come nei terreni difasici l'emetina venisse costantemente, ma anche irregolarmente, assorbita dalla fase solida, portando, pertanto, ad una inesatta valutazione della reale concentrazione della sostanza contenuta nella fase liquida.

Jones (1952) seguì un ceppo di *E.histolytica* (Woods P.I.), coltivato in laboratorio, su terreno monofasico (Paulova modificato Jones) addizionato di emetina a concentrazioni subletali per 24 subcolture. Non notò un aumento di resistenza del ceppo rispetto al controllo, anzi, al contrario, una maggiore sensibilità.

Shaffer e Washington (1952) coltivarono due ceppi (« Luna » e « 200 ») in terreno monofasico addizionato di terramicina, aureomicina ed emetina a concentrazioni subinibenti costanti per un totale di 38 passaggi. Dopo tale periodo i due ceppi trattati, in paragone ai controlli (mai trattati), furono posti a contatto con dosi scalari delle varie sostanze. Gli AA. ricercarono la dose atta ad ottenere una riduzione pari al 75% del numero dei trofozoiti e dai risultati ottenuti conclusero affermando che non era possibile rilevare alcun aumento della resistenza.

Mc Connachie (1953) studiò, in terreno monofasico, l'azione amebicida di alcune sostanze (emetina e composti derivati della clorochinaldina) su *Entamoeba invadens*. Egli trovò che, dopo nove mesi di contatto con emetina, in dosi sempre crescenti ma sempre inferiori alla subinibente, non era stato possibile constatare nessun aumento della resistenza.

Halawani (1930), di contro, ritenne fosse possibile ottenere ceppi resistenti. Egli usò un terreno difasico (siero di bue inattivato + Ringer + bianco d'uovo) per saggiare un ceppo di *E.histolytica* (« Mena ») che alle prove preliminari si presentava come particolarmente resistente all'emetina. Partendo da una diluizione di emetina pari a 1 : 400.000 ed eseguendo successivi passaggi a concentrazioni sempre più elevate il ceppo arrivò a sopportare concentrazioni pari ad 1 : 10.000 contro l'1/40.000 del ceppo non trattato. Usando un terreno monofasico (bianco d'uovo + Ringer) lo stesso ceppo già precondizionato con l'emetina, sopportava una concentrazione di 1 : 50.000 contro l'1/200.000 dello stesso non precondizionato. Da tali risultati l'A. trasse il convincimento che fosse possibile ottenere ceppi emetino-resistenti.

Bonnin e Aretas (1938-39) saggiarono, su terreno difasico, due ceppi (« S » e « MIV ») con emetina. Il ceppo « S » dopo 24 h resisteva ad una concentrazione di emetina pari a 1:225.000 mentre l'« MIV » ad una pari a 1:150.000. Gli stessi ceppi, posti a contatto con concentrazioni progressive di emetina (a partire da una diluizione minima di 1/1.800.000), mostravano, dopo 15 triplici passaggi (tre subcolture per diluizione), una resistenza alla concentrazione di emetina di 1/1500 per il ceppo « S » di 1/7500 per il ceppo « MIV ». Essi conclusero affermando la possibilità di provocare *in vitro* la resistenza al farmaco anche se variabile, dipendendo, essa, dal ceppo impiegato.

Rodanicke e Kirsner (1942) saggiando la sulfamilamide su un ceppo di *E. histolytica* in terreno difasico (Cleveland e Collier), notarono un rapido aumento della resistenza al farmaco.

Seneca e Seneca e Murphy (1954) saggiarono su terreno difasico l'azione della ossitetraciclina su 11 ceppi di *E. histolytica* a concentrazioni subinibenti, seguendone il comportamento per numerose subcolture (da 28 a 51). Essi notarono che otto ceppi non mostravano alcuna differenza di comportamento dopo il trattamento rispetto ai propri

controlli. Degli altri: due diventarono più sensibili ed uno aumentò la sua resistenza di quattro volte rispetto alla iniziale. Eseguendo 20 subcolture di questi ultimi in terreno comune constatarono un rapido ritorno alla normalità dei due ceppi divenuti più sensibili, mentre il ceppo antibiotico-resistente mantenne inalterata la sua resistenza.

Nell'intento di voler indagare sull'interessante problema, e disponendo di alcuni ceppi di *E. histolytica*, coltivati nel nostro laboratorio, ci è sembrato utile avviare delle ricerche in proposito.

MATERIALE E TECNICA

Le esperienze sono state eseguite adoperando quattro ceppi di *E.histolytica*, da tempo in coltura nel nostro laboratorio, e cioè:

— *ceppo Napoli* : in simbiosi con *E.coli*, *Ps.aeruginosa*, ed un bacillo anaerobio gram-negativo.
— *ceppo Amburgo* : in associazione con la stessa flora del Napoli.
— *ceppo E.D.M.* : in associazione con *E.coli*, *Ps.aeruginosa*, *Alc.metalc.*, *Alc.foecalis* e anaerobi saccarolitici.
— *ceppo Lero* : in associazione con *E.coli*, *Ps.aeruginosa* e *Kl.aerogenes*.

Come terreno si è scelto il terreno monofasico di Magaudda-Borzì e Pennisi preparato secondo la seguente formula:

Liquido di Locke modificato	parti 7
Siero di cavallo inattivato	parti 1

Tracce di amido di riso deproteinizzato.

Detto terreno monofasico è stato distribuito nei tubi di coltura nella quantità esatta di cc. 6.

Gli antibiotici adoperati sono stati:
— Acromicina (tetracyn diagnostica Pfizer)
— Colimicina (Smith)
— Terramicina (ossitetraciclina diagnostica tamponata Pfizer).

Con detti antibiotici vennero allestite soluzioni madri in liquido di Locke ad un titolo pari a:

2.500 gamma per cc. per la Acromicina
10.000 unità per cc. per la Colimicina
1.000 gamma per cc. per la Terramicina.

Le dosi di antibiotici da addizionare ad ogni tubo venivano allestite, da tali soluzioni madri, di volta in volta eseguendo le diluizioni sempre con liquido di Locke. L'inoculo delle amebe era costituito da una sospensione di trofozoiti ben omogeinizzata, lavata per centrifugazione (a 37°C) e risospesa in Locke (cc. 0,50 per inoculo).

RISULTATI

Pur avendo eseguito le diluizioni degli antibiotici con Locke tamponato e ripreso gli inoculi con lo stesso liquido, abbiamo voluto controllare le variazioni del pH del terreno eseguendo, al potenziometro Beckmann mod. G, una serie di determinazioni preventive i cui risultati sono riportati nella tabella 1.

Da essa si può rilevare come l'aggiunta dell'antibiotico (diluito con Locke) non sposta il pH del terreno e solo di poco lo abbassa l'aggiunta dell'inoculo. Solo dopo 48 ore di coltura esso scende ad un pH acido (6,52) e sostanzialmente tale spostamento sembrerebbe legato più all'attività dei batteri che non dell'ameba stessa. La aggiunta dell'antibiotico in dosi

minime non sembra, infatti, modificare lo sviluppo della flora batterica concomitante. Lo stesso comportamento si è notato allorquando sono state aumentate successivamente le dosi dello antibiotico.

Le esperienze sono state iniziate con l'aggiunta, per ogni ceppo, di piccole dosi di antibiotici pari a:

0,94 gamma/cc. di acromicina

150/U/cc. di colimicina.

0,3 gamma/cc. di terramicina.

TABELLA 1

Variazioni del pH del terreno in seguito ad aggiunta di piccole dosi di antibiotico e dell'inoculo e a permanenza in termostato a 37°C per 48 ore.

Ceppi di amebe	Flora batterica dei ceppi amebici	Antibiotico	Valori del pH del terreno colturale nei seguenti tempi successivi:			
			Iniziale	Dopo aggiunta dello antibiotico	Dopo aggiunta dello inoculo amebico	Dopo 48 ore di permanenza in termostato a 37°
Amebe	Batteri	Terramicina	7.60	7.60	7.52	6.53
» »	» »	Acromicina	7.60	7.60	7.54	6.54
» »	» »	Colimicina	7.60	7.60	7.53	6.52
» »	» »	— — —	7.60	7.60	7.52	6.53
— — —	» »	— — —	7.60	7.60	7.50	6.50
— — —	» »	Terramicina	7.60	7.60	7.52	6.52
— — —	» »	Acromicina	7.60	7.60	7.54	6.53
— — —	» »	Colimicina	7.60	7.60	7.53	6.54

Con tali concentrazioni lo sviluppo di *E. histolytica* non veniva affatto inibito o rallentato rispetto ai tubi controllo.

La dose di antibiotico è stata, allora, gradualmente aumentata con dosi pari, per ogni aumento, a 0,47/gamma/cc. per l'acromicina, a 0,15 gamma per la terramicina e a 76/U/cc. per la colimicina, fino ad arrivare, dopo un certo numero di subcolture, alla morte dei trofozoiti dei tre ceppi.

In parallelo si sono eseguite colture di controllo con gli stessi ceppi non trattati con antibiotici.

Si è segnata la concentrazione finale di antibiotico ad azione amebicida e contemporaneamente si è saggiata la sensibilità delle colture di controllo.

Nella tabella 2, nella quale vengono riportati i risultati ottenuti, si evidenzia la maggiore sensibilità, verso tutti e tre gli antibiotici saggiati, acquisita dal ceppo Napoli posto a contatto con dosi crescenti di antibiotico rispetto allo stesso ceppo non trattato. I ceppi EDM e Amburgo non mostrano sostanziali differenze di comportamento ad eccezione che per la colimicina; il ceppo EDM si mostra, infatti, lievemente più sensi-

bile verso questo ultimo antibiotico rispetto al controllo. Per quanto riguarda il ceppo Lero, esso dimostra, invece, di aver acquisito una maggiore resistenza verso tutti e tre gli antibiotici in esame.

TABELLA 2

Modificazioni della sensibilità di ceppi di Entamoeba histolytica *(Napoli, Amburgo, EDM, Lero) trattati con dosi progressive di antibiotici (Acromicina, Terramicina Colimicina) rispetto agli stessi ceppi non trattati.*

Denominazione del ceppo di *E. histolytica*	Trattamento (1)	Antibiotici usati		
		Acromicina (2)	Terramicina (2)	Colimicina (3)
Napoli	+ + +	7.59	2.66	1.333
	— — —	19.00	10.00	2.666
Amburgo . . .	+ + +	25.91	16.90	1.977
	— — —	27.00	17.00	1.920
EDM	+ + +	25.91	18.00	1.977
	— — —	27.00	19.00	2.662
Lero	+ + +	165.00	63.00	11.560
	— — —	127.00	38.00	7.460

(1) ceppi trattati con gli antibiotici = + + +
ceppi non trattati con gli antib. = — — —
(2) concentrazione in gamma × cc. di terreno colturale
(3) concentrazione in Unità × cc. di terreno colturale

Allo scopo di meglio confermare tale comportamento gli stessi quattro ceppi di *E.histolytica,* posti di fronte a dosi subletali, ma costanti, di antibiotici, (vedi lo schema riportato nella tabella 3), furono seguiti per cinquanta subcolture, in paragone alle relative serie di controllo senza antibiotici.

Dopo il 50° passaggio si saggiò la resistenza dell'ultima subcoltura in paragone a quella di controllo per tutti i tre ceppi in esame (vedi tab. 4).

I risultati riportati nella tabella 4 confermano quanto già osservato nella prima prova: i ceppi non trattati non mostrano, infatti alcuna dif-

TABELLA 3

Concentrazione degli antibiotici nel terreno di coltura (M.P.) monofasico.

Denominazione del ceppo di *E. histolytica*	Dose degli antibiotici		
	Acromicina (1)	Terramicina (1)	Colimicina (2)
Napoli	0.19	0.075	38
Amburgo . . .	0.56	0.29	38
EDM	0.56	0.29	38
Lero	3.33	1.33	220

(1) concentrazione in gamma × cc. di terreno colturale
(2) concentrazione in Unità × cc. di terreno colturale

ferenza o presentano solo minime variazioni, legate in gran parte alla difficoltà della titolazione di dosi minime quali quelle usate, mentre quelli trattati hanno un comportamento del tutto sovrapponibile a quello della prima prova.

Il ceppo Napoli ha, anzi, accentuato la sua sensibilità agli antibiotici rispetto allo stesso ceppo non trattato, mentre il Lero ha aumentato la sua capacità di resistenza, rispetto ai risultati delle prime prove.

Il ceppo Amburgo ha confermato la sua insensibilità al trattamento con i tre antibiotici (nessuna differenza tra il comportamento del ceppo trattato e non trattato); la stessa insensibilità continua a mostrare il ceppo EDM per il trattamento con acromicina, mentre per la terramicina e per la colimicina mostra una più o meno lieve sensibilità.

Allo scopo di meglio chiarire il comportamento dei vari ceppi sono stati calcolati (vedi tabella 5) i relativi numeri indici per le due serie di esperienze (ceppi trattati con dosi crescenti di antibiotico e ceppi trattati con dosi subinibenti costanti), ponendo eguale a 100 i valori dei rispettivi ceppi normali.

TABELLA 4

Modificazioni della sensibilità di ceppi di Entamoeba histolytica *(Napoli, Amburgo, EDM, Lero) trattati con dosi subinibenti e costanti di antibiotici (Acromicina, Terramicina, Colimicina) rispetto agli stessi ceppi non trattati.*

Denominazione del ceppo di *E. histolytica*	Trattamento (1)	Antibiotici usati		
		Acromicina (2)	Terramicina (2)	Colimicina (3)
Napoli	+ + +	5.28	1.88	1.095
	— — —	19.04	9.82	2.528
Amburgo	+ + +	26.30	15.28	1.875
	— — —	27.10	16.00	1.875
EDM	+ + +	26.30	16.89	2.073
	— — —	26.30	19.04	2.528
Lero	+ + +	177.00	71.42	12.162
	— — —	130.00	38.40	7.430

(1) ceppi trattati con gli antibiotici = + + +
ceppi non trattati con gli antib. = — — —
(2) concentrazione in gamma × cc. di terreno colturale
(3) concentrazione in Unità × cc. di terreno colturale

Dai risultati, riportati nella tabella 5, appare evidente come il ceppo Napoli, messo a contatto con dosi crescenti di antibiotico, mostri una sensibilità pari a 2, 3 e quasi 4 volte quella normale; tali valori salgono fino a 5 volte con la terramicina, allorquando lo stesso ceppo venga trattato con dosi subinibenti ma costanti.

Le oscillazioni dell'Amburgo si mantengono in valori minimi spiegabili con l'errore sperimentale delle diluizioni.

L'EDM, in entrambe le esperienze, non sposta i valori della resistenza verso l'acromicina, mentre tende a mostrare una maggiore sensibilità verso la terramicina nella seconda serie di esperienze. Nei riguardi della colimicina, invece, evidenzia una notevole sensibilità nella prima prova, mentre è chiaramente meno sensibile dopo la serie delle 50 subcolture con dosi subinibenti.

TABELLA 5

Modificazioni della sensibilità dei ceppi trattati con antibiotici in dosi crescenti e in dosi costanti rispetto agl stessi ceppi non trattati (Numeri indice 100 = sensibilità ceppo non trattato).

Denominazione del ceppo di *E. histolytica*	Trattamento	Antibiotici usati		
		Acromicina	Terramicina	Colimicina
Napoli	+ + + (1)	39.94	26.60	50.00
	— — — (2)	27.73	19.14	43.31
Amburgo . . .	+ + +	95.96	99.41	102.96
	— — —	97.0	95.50	100.00
EDM	+ + +	95.96	94.73	74.26
	— — —	100.00	88.70	82.01
Lero	+ + +	129.92	165.78	154.95
	— — —	136.15	185.98	163.68

(1) con dosi di antibiotici costantemente aumentati = + + +
(2) con dosi di antibiotici subinibenti ma costanti = — — —

Il ceppo Lero acquista già chiaramente una maggiore resistenza allorquando venga trattato con dosi crescenti di antibiotico; aumenta, però, tale sua proprietà nelle seconde prove, con un massimo per la terramicina.

Ci è sembrato utile controllare se la chiara sensibilità acquisita dal ceppo Napoli e la resistenza del Lero avessero carattere stabile; i due ceppi, resi sensibili o resistenti, vennero coltivati per 40 subcolture in terreni normali. Dopo tale periodo si saggiò di nuovo la resistenza ottenendo risultati del tutto sovrapponibili a quelli riportati nella tabella 4.

Si può, pertanto, affermare come le modificazioni della sensibilità si siano mantenute costanti nei vari ceppi, anche dopo 40 subcolture in terreni normali.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

E' noto come a distanza di tempo ceppi di *E. histolytica* coltivati « in vitro » possano variare naturalmente il loro grado di resistenza ai farmaci

(Magaudda-Borzì e Pennisi), variazioni che sono anche legate ai valori del pH del terreno, del POR ed al tipo di terreno usato.

Accanto a queste variazioni che potremmo definire naturali, è possibile, però, come resta dimostrato dai risultati delle nostre ricerche, che un ceppo di *E. histolytica* acquisisca questa nuova proprietà.

Si conferma in tal modo che ceppi di *E. histolytica* possono modificare la loro sensibilità ai farmaci dopo un trattamento più o meno lungo col farmaco stesso.

In contrasto a quanto affermato dal Craig sembra, però, possibile ottenere ceppi sia più resistenti che più sensibili. Tale evenienza, già in parte messa in luce dalle prove *in vitro* riportate da numerosi AA. a proposito delle prove di amebicidia, resta ora sperimentalmente confermata dalle nostre ricerche che sono in pieno accordo con quelle del Seneca.

Vi è, inoltre, da far notare come, tra i ceppi usati, due, (Napoli ed Amburgo), pur essendo coltivati con la stessa flora batterica, mostrino un comportamento nettamente diverso verso gli antibiotici saggiati: uno di essi (Napoli) diventa, infatti, più sensibile, l'altro (Amburgo) non presenta alcuna variazione.

Ciò ci consente di poter avanzare l'ipotesi che nel fenomeno della variazione della sensibilità, la flora batterica giuochi un ruolo del tutto irrilevante. E' possibile, quindi, pensare che tali variazioni siano da considerare come delle vere e proprie mutazioni indotte nel ceppo; mutazioni che resterebbero confermate dalla persistenza del nuovo carattere acquisito dal ceppo; carattere che si conserva ancora dopo numerosissimi passaggi (40 subcolture).

E' evidente che le prove eseguite con quattro ceppi, di cui due soli a flora simbionte eguale, non consentono di trarre delle interpretazioni definitive del fenomeno.

E', pertanto, nostra intenzione di procedere a nuove ricerche sull'interessante fenomeno, lavorando su un maggior numero di ceppi di *E. histolytica* e provando a variare in alcuni di essi la flora simbionte.

IN VITRO MODIFICATIONS OF SENSITIVITY OF VARIOUS STRAINS OF *ENTAMOEBA HISTOLYTICA* TOWARDS SOME ANTIBIOTICS (ACROMYCINE, CHOLIMYCINE, TERRAMYCINE).

Investigations have been conducted on *in vitro* modifications of sensitivity of four strains of *Entamoeba histolytica* towards some antibiotics (acromycine, cholimycine, terramycine).

Results showed it was possible to obtain, after a more or less prolonged treatment with the antibiotic, more resistent as well as more sensitive strains.

The role of bacterial flora on the variation of sensitivity towards remedies is probably quite unimportant.

BIBLIOGRAFIA

BONNIN H., ARETAS R. (1938) — *Bull. Soc. Pat. exot., 31,* 829.
BONNIN H., ARETAS R. (1939) — *C. R. Soc. Biol., 130,* 495.
McCONNACHIE E. W. (1954) — *Parasitology, 44,* 132
DOBELL C. (1947) — *Ann. Soc. Belge Med. Trop., Liber Jubil. Rodhain,* 201.
DOBELL C., LAIDLAW P. P. (1926) — *Parasitology, 18,* 206.
HALAWANI A. (1930) — *Ann. Trop. Med. Parasit., 24,* 273.
JONES W. R. (1952) — *Exp. Parasit., I,* 118.
MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1957) — *Atti Soc. Pel. Sci. Fis. Mat. e Nat., 3,* 455.
MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1958) — *Riv. di Parassit., 19,* 237.
MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1961) — *Riv. di Parassit., 22,* 55.
RODANICHE E. C., KIRSNER J. B. (1942) — *J. Parasitol., 28,* 441.
SENECA H. (1954) — *J. Lab. clin. Med., 43,* 713.
SENECA H. (1957) — *Gastroenterology, 32,* 895.
SENECA H., BERGENDAHL E. (1954) — *Science, 120,* 988.
SENECA H., MURPHY L. (1953-1954) — *Antibiot. Annual.,* 570.
SHAFFER J. G., WASHINGTON J. E. (1952) — *Proc Soc. Exper. Biol. Med., 80,* 63.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 3 - Settembre 1961

NOTICE DE LA CARTE DES ZONES MALARIOLOGIQUES NATURELLES DE LA REPUBLIQUE DU CONGO ET DU RUANDA-URUNDI.

G. D'Haenens, M. Lips et H. Meyus (*)

Les auteurs donnent un aperçu général des zones malariologiques naturelles de la République du Congo et du Ruanda-Urundi. Ils se basent sur l'étude des principaux facteurs climatiques, géographiques, phyto-géographiques, orographiques, hydrographiques, démographiques et autres intervenant dans l'écologie de la malaria.

Ils ont ainsi divisé le Congo et le Ruanda-Urundi en cinq grands groupes de zones malariologiques: I, la zone littorale; II, les zones de forêt équatoriale; III, les zones de savane; IV, les zones des hauts plateaux et des montagnes de l'Est; V, la zone des rives des grands cours d'eau et extensions marécageuses. Chaque zone est décrite tenant compte des facteurs cités plus haut. Les principaux anophèles y recontrés sont mentionnés.

L'intensification et le développement constant de la lutte antipaludique en Afrique rendait indispensable l'étude rationnelle et systématique du paludisme et de sa répartition au Congo et au Ruanda-Urundi.

Le S.E.C.L.A. entreprit donc l'étude des principaux facteurs climatiques, géographiques, phytogéographiques, orographiques, hydrographiques, démographiques et autres intervenant dans l'écologie de la malaria et leur relation avec la distribution du paludisme au Congo et au Ruandi-Urundi.

Cette étude, complétée par les observations personnelles des auteurs et l'examen des données contenues dans les rapports provenant de diverses régions, a permis de dresser, dans ses grandes lignes, la *carte des Zones Malariologiques naturelles* que nous presentons ici.

Cette carte est cependant loin d'être parfaite. Le texte explicatif est très souvent sommaire, exempt de renseignements malariologiques précis, car bien des données nous manquent encore ou doivent être contrôlées. La plupart des limites de zones malariologiques ont été établies à la suite d'études comparatives ou d'interpolations basées sur nos connaissances

(*) *S.E.C.L.A.: Service d'Etude et de Coordination de la Lutte Antipaludique; B.P. 8272 à Léopoldville, République du Congo.*

actuelles de la biologie des vecteurs et des *Culicidae* en général. Elle constitue un gabarit souvent théorique, que des études plus approfondies et des renseignements plus précis et surtout moins sujets à caution, permettront de confirmer ou de corriger dans un prochain avenir.

Nous sommes convaincus cependant que les zones malariologiques que nous avons ainsi établies représentent assez fidèlement la situation réelle En effet, si les limites des zones malariologiques correspondent parfois assez précisément avec celles de la végétation ou des climats et ont été souvent basées sur ces facteurs, c'est que ceux-ci influent tant sur l'occupation humaine, sa répartition et la façon de vivre des populations que sur la présence, la répartition, la biologie et le comportement des vecteurs de malaria. Ils déterminent ainsi en définitive l'intensité et la fluctuation saisonnière de l'endémie malarienne, l'apparition sporadique ou régulière d'épidémies et, sans doute même, les espèces de *Plasmodium* et leur proportion relative dans le sang des paludéens.

C'est en nous basant sur cet ensemble de considérations que nous diviserons le Congo et le Ruanda-Urundi en cinq grands groupes de zones malariologiques:

I. La Zone littorale.

II. Les Zones de Forêt équatoriale.
  A. Zone de la forêt marécageuse et inondée.
  B. Zone de la forêt équatoriale de la Cuvette centrale.
  C. Zone des forêts suborophiles.
  D. Zone de transition a forêts parcs

III. Les Zones de savane.
  A. Zone de savane nord.
  B. Zone de savane sud.
  C. Zone de savane orientale.

IV. Les zones des hauts plateaux et des montagnes de l'est.
  A. Zones de transition submontagnardes (1000 à 1200 m).
    a. Zone de transition submontagnardes équatoriale.
    b. Zone de transition submontagnarde du plateau central du Ruanda-Urundi.
    c. Zone de transition submontagnarde soudanienne.
  B. Zones des hauts plateaux Katangais (1200 m et plus).
    a. Zone des plateaux d'altitude inférieure à 1500 m.
    b. Zone des plateaux d'altitude supérieure à 1500 m.
  C. Zone des montagnes de l'est (1750 m et plus).

V. La zone des rives des grands cours d'eau et extensions marécageuses.

DESCRIPTION DES ZONES MALARIOLOGIQUES

I. *La zone littorale.*

Limitée à une étroite bande de terre longeant l'Océan Atlantique et pénétrant de quelques kilomètres dans l'estuaire du fleuve Congo, la zone littorale se prolonge au Sud et au Nord le long des côtes de l'Angola, de l'Enclave de Cabinda et de la République du Congo.

Le climat y est influencé par le courant marin froid du Benguela qui en abaisse sensiblement la température.

Le brouillard très fréquent compense des précipitations atmosphériques rares et une hauteur annuelle de pluie n'atteignant pas 1000 mm.

La végétation est caractérisée par la Mangrove, notamment dans l'embouchure du fleuve Congo, dans l'eau saumâtre de laquelle se développent les larves d'*Anopheles gambiae* var. *melas* Theobald. La faune culicidienne y est caractérisée également par *Aëdes* (*Aedimorphus*) *nigricephalus* Theobald, *Aëdes* (*Aedimorphus*) *irritans* Theobald et *Culex* (*Culex*) *thalassius* Theobald.

II. *Les zones de forêt équatoriale.*

Ce groupe de zones comprend toute la partie du territorie congolais recouverte de forêt équatoriale entre le 4° Nord et le 4° Sud et une petite enclave située près de l'embouchure du fleuve Congo.

Le climat y est du type équatorial (à l'exception de la forêt du Mayumbe), sans saison sèche et une hauteur annuelle des pluies de plus de 1600 mm.

Dans ce groupe des zones de forêt équatoriale nous distinguerons:

A) *La zone de forêt marécageuse inondée.*

Cette zone, localisée le long de la frontière Ouest du Congo entre le 2° Sud et le 3° Nord se prolonge le long des grands cours d'eau (fleuve Congo et rivière Tshuapa) jusqu'au centre de la cuvette centrale.

La population y est très dispersée de densité inférieure à 3 habitants au km², et constituée en majeure partie par les familles de pêcheurs qui campent, au gré de leurs pêches, au milieu des marais.

Les *Mansonioides* pullulent et le vecteur de malaria dominant, sinon unique est l'*Anopheles moucheti* Evans.

B) *La zone de la forêt équatoriale de la Cuvette centrale*

Constituée par la forêt dense équatoriale, cette zone occupe, entre le

3° Sud et le 3° Nord, tout le reste de la cuvette centrale à l'Est de la forêt marécageuse et inondée.

La population y est très dispersée, de densité égale à 3 habitants au km² environ, éparpillée dans la forêt où elle se déplace suivant les nécessités de la chasse.

La végétation uniformément répartie sur un terrain plat forme un biotope homogène.

L'A. moucheti le long des cours d'eau importants, *Anopheles funestus* Giles et *Anopheles gambiae* Giles dans la forêt même, représentent les trois principaux vecteurs de malaria de cette zone.

C) *La zone de forêts suborophiles.*

Quoique recouverte de forêt équatoriale, cette zone se différencie assez nettement des zones de la forêt marécageuse et inondée, ainsi que de la forêt équatoriale de la Cuvette centrale par le relief du pays, la végétation dans laquelle apparaissent quelques essences tropophiles et une densité de population beacoup plus élévée se situant entre 10 et 20 habitants au km².

A. funestus et *A. gambiae* y sont les principaux vecteurs de malaria

Nous distinguerons dans cette zone:

— La forêt de l'Ituri et son extension méridionale dont le climat est du type équatorial avec de 1600 à 1800 mm de pluies annuelles au Nord et 2500 mm au Sud. Le pays vallonné est entrecoupé de vallées. La population, moins éparpillée et plus stable atteint une densité de 10 habitants au km² dans le Nord, et de 14 habitants au Km² dans le Sud.

— La région de Rutshuru, fort semblable à la forêt de l'Ituri dont elle n'est séparée que par un léger relèvement du terrain. Le vecteur dominant semble y être *A. funestus.*

— La forêt du Mayumbe, lambeau de forêt équatoriale situé sur le versant maritime des monts de Cristal. Le climat subit sensiblement l'influence de la proximité de l'Océan Atlantique et est du type présoudanien.

La hauteur annuelle des pluies ne dépasse jamais 1400 mm et la saison sèche dure 5 mois environ. Des brouillards denses et fréquents compensent le déficit de saturation dû à la saison sèche. Le relief est fort mouvementé, les vallées encaissées et profondes. La population y atteint une densité supérieure à 20 habitants au km².

D) *La zone de transition à forêts parcs.*

Compromis entre la forêt équatoriale et la savane, la zone de transition à forêts-parcs est représentée, au Nord de la forêt équatoriale de la Cuvette centrale, par une bande étroite et peu étendue, tandis qu'elle occu-

pe de l'Ouest à l'Est, à hauteur du 4° Sud, une bande de plus de 200 km de large.

Cette zone est constituée par un mélange de forêt équatoriale et de savane, où cette dernière domine de plus en plus au fur et à mesure que l'on s'écarte de l'Equateur.

Le climat est équatorial, avec 1600 à 1800 mm annuels de pluies et 2 mois de saison sèche

Quoique la densité de la population soit légèrement supérieure à celle de la forêt équatoriale proprement dite, elle ne dépasse pas 4,5 habitants au km² dans les régions le plus peuplées.

Comme vecteurs de malaria nous y rencontrons *A. funestus, A. moucheti* et *A. gambiae.*

III. *Les zones de savanes.*

Malgré leur apparente hétérogénéité, ces zones constituent un ensemble de zones malariologiques distinct et particulier.

Suivant la latitude, la saison sèche y varie de 1 à 5 mois et les précipitations atmosphériques de 1000 à 1800 mm par an. La végétation passe graduellement, de l'Equateur vers les tropiques, de la forêt-parc à la savane herbeuse des hauts plateaux en passant par la savane boisée et la savane arbustive.

La densité de la population varie da 2,5 à 25 habitants au km².

La faune culicidienne est ubiquiste, éparpillée, et, dans l'état actuel de nos connaissances, aucun espèce ne caractérise spécialement les zones de savane.

Ces zone sont caractérisées notamment par leur végetation où les essences tropophiles dominent de plus en plus lorsqu'on s'éloigne da la zone équatoriale, par les galeries forestières bordant les cours d'eau même de très faible importance et dans lesquelles se concentre généralement la faune culicidienne, et par un indice plasmodique relativement élevé dépassant parfois 50%.

On y observe une fluctuation saisonnière des vecteurs suivant les saisons.

Nous distinguerons 3 grandes zones de savane:

A) *La zone de savane nord.*

Cette zone étroite qui occupe tout le Nord du Congo est assez homogène.

La saison sèche s'étend sur 1 à 3 mois et les chutes de pluies varient entre 1400 et 1800 mm par an.

La végétation est du type savane guinéenne, avec de nombreuses galeries forèstieres, passant graduellement de la forêt-parc à la savane proprement dite au Nord.

La densité de la population est de 9 habitants au km² à l'Ouest et de 7 habitants au km² à l'Est.

A. funestus, A, gambiae et *A. moucheti* y sont les principaux vecteurs de malaria.

B) *La zone de savane orientale.*

Cette zone qui longe la frontière Est du Ruanda-Urundi en dessous de 1500 m d'altitude occupe également deux petites étendues au Nord et au Sud du lac Edouard.

Elle est plus sèche que la zone de savane Nord. La quantité annuelle de pluie varie entre 900 et 1300 mm et la saison sèche dure 4 mois environ dans le Ruanda-Urundi, 1 mois sur les bords du lac Edouard.

Les vecteurs de malaria sont *A. funestus* et *A. gambiae.*

On a constaté une proportion élevée de *Plasmodium malariae* dans le sang des paludéens du Nord de la savane orientale du Ruanda-Urundi.

C) *La zone de savane sud.*

Cette zone, qui occupe une importante partie du territoire congolais au Sud du 4° Sud, de l'Océan Atlantique au Graben de l'Est et au hauts plateaux katangais se caractérise par son hétérogénéité.

S'il n'est pas encore possible de fixer actuellement les limites de subdivisions précises, il apparaît certain cependant qu'on peut dès à présent déja distinguer 7 grandes régions:

1 - *Les monts de Cristal et leurs versants Est et Ouest,* soumis encore au climat maritime, au relief accidenté, et une densité de population de 11 à 25 habitants au km²;

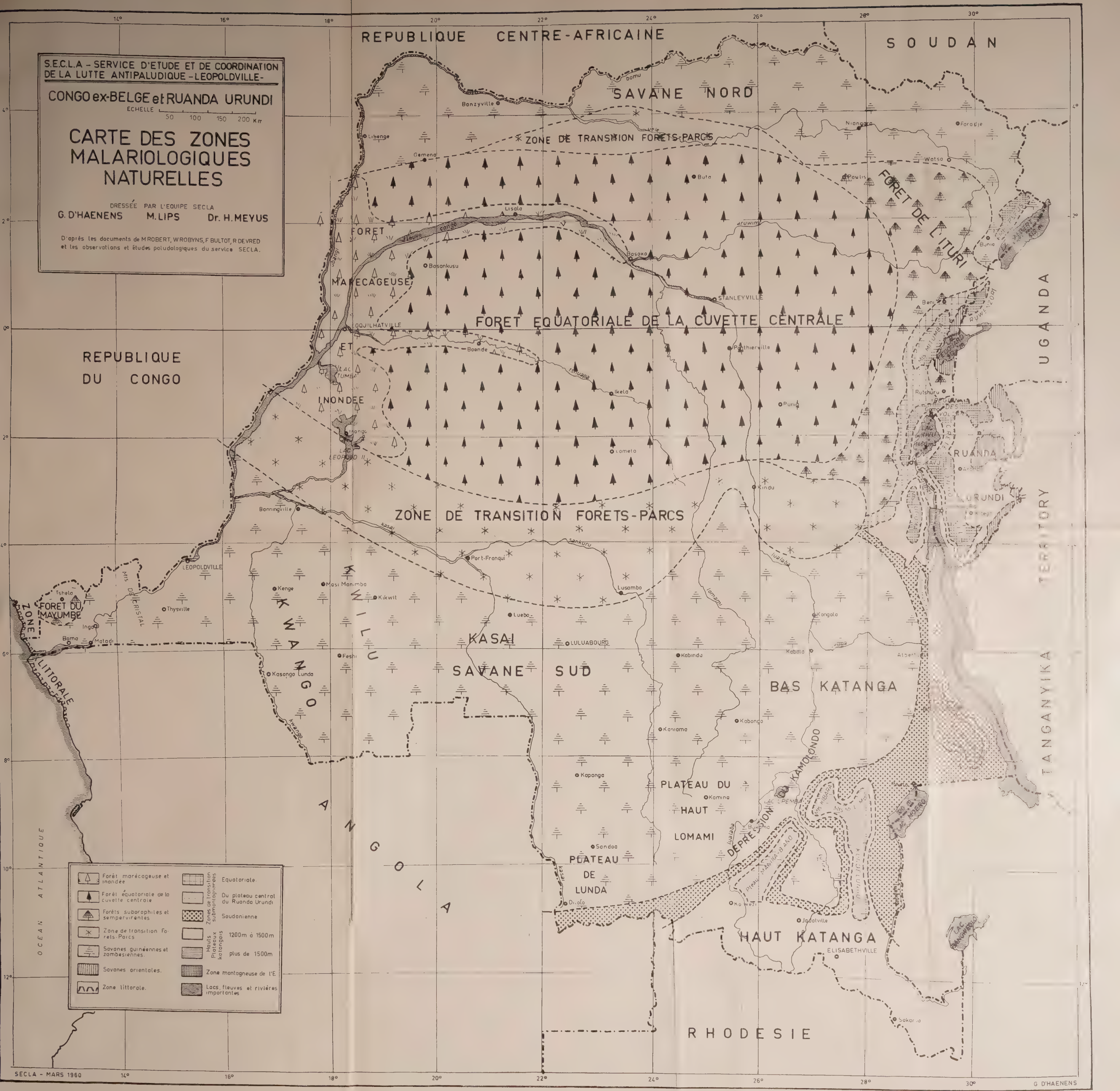
2 - *Le Kwango,* au relief mouvementé avec ses collines couvertes de savanes steppiques et 5 habitants au km²;

3 - *Le Kwilu et le Kasai,* plus proches de la zone de transition à forêt-parcs avec une saison sèche plus courte, 1700 mm de pluies annuelles, et une densité de population de 15 habitants au km²;

4 - *Le Bas-Katanga,* qui précède les premiers éléments montagneux du Graben de l'Est, ne possède que 3,5 habitants au km², et jouit de 4 à 5 mois de saison sèche et 1300 mm de chute annuelle de pluie.

5 - *Les plateaux du haut Lomami et le Lunda,* recouverts de vastes étendues de savane herbeuse avec 3 habitants seulement au km².

6 - *La dépression du Kamolondo,* vaste région marécageuse peuplée de


S.E.C.L.A - SERVICE D'ETUDE ET DE COORDINATION DE LA LUTTE ANTIPALUDIQUE - LEOPOLDVILLE -
CONGO ex-BELGE et RUANDA URUNDI
ECHELLE 50 100 150 200 Km
CARTE DES ZONES MALARIOLOGIQUES NATURELLES
DRESSÉE PAR L'EQUIPE SECLA
G. D'HAENENS M. LIPS Dr. H. MEYUS
D'aprés les documents de M ROBERT, W ROBYNS, F BULTOT, R DEVRED et les observations et études paludologiques du service SECLA.
Forêt marécageuse et inondée
Forêt équatoriale de la cuvette centrale
Forêts suborophiles et sempervirentes
Zone de transition Forets-Parcs
Savanes guinéennes et zambesiennes.
Savanes orientales.
Zone littorale.
Zones de transition submontagnardes
Equatoriale.
Du plateau central du Ruanda Urundi
Soudanienne
Hauts Plateaux katangais
1200m à 1500m
plus de 1500m
Zone montagneuse de l'E
Lacs, fleuves et rivières importantes
REPUBLIQUE CENTRE-AFRICAINE
SOUDAN
SAVANE NORD
ZONE DE TRANSITION FORETS-PARCS
FORET DE L'ITURI
FORET MARECAGEUSE ET INONDEE
FORET EQUATORIALE DE LA CUVETTE CENTRALE
REPUBLIQUE DU CONGO
UGANDA
RUANDA
URUNDI
TANGANYIKA TERRITORY
ZONE DE TRANSITION FORETS-PARCS
FORET DU MAYUMBE
ZONE LITTORALE
KWANGO
KWILU
KASAI
SAVANE SUD
BAS KATANGA
ANGOLA
PLATEAU DU HAUT LOMAMI
PLATEAU DE LUNDA
DEPRESSION DU KAMOLONDO
HAUT KATANGA
RHODESIE
OCEAN ATLANTIQUE
Libenge
Gemena
Banzyville
Niangara
Faradje
Watsa
Buta
Paulis
Lisala
Bunia
Basoko
Basankusu
STANLEYVILLE
Beni
COQUILHATVILLE
Boende
Ponthierville
Ikela
Punia
Rutshuru
Lomela
Kindu
Banningville
Port-Francqui
LEOPOLDVILLE
Kenge
Masi Manimba
Kikwit
Tshela
Thysville
Boma
Matadi
Luebo
Lusambo
Kongolo
LULUABOURG
Feshi
Kabinda
Kabalo
Albertville
Kasongo Lunda
Kabongo
Kaniama
Kapanga
Kamina
Sandoa
Dilolo
Kolwezi
Jadotville
ELISABETHVILLE
Sakania
LAC TUMBA
LAC LEOPOLD II
LAC MOERO
LAC BANGWEOLO
SECLA - MARS 1960
G. D'HAENENS

pêcheurs et où pullulent les mansonioïdes (cette région fait davantage partie de la zone des rives des grands cours d'eau et extensions marécageuses);

7 - *La plaine de la Ruzizi,* enclavée dans l'étroit corridor formé par les monts Ngoma et la crête Congo-Nil, au Nord du lac Tanganika, où il ne tombe que 900 mm de pluies annuelles et où la saison sèche s'étend sur 4 mois.

Les principaux vecteurs de malaria de cette zone sont *A. funestus* et *A. gambiae.*

IV. *Les zones des hauts plateaux et des montagnes de l'Est.*

Ces zones qui occupent toutes les régions montagneuses et élevées de l'Est et du Sud-Est du Congo et du Ruanda-Urundi, possèdent des caractères malariologiques particuliers dus notamment aux conditions de température.

A l'exception des monts Mitumba, du massif du Ruwenzori et des Monts Bleus, situés à hauteur de l'Equateur ou soumis encore à l'influence de la proximité de la Cuvette centrale, la hauteur annuelle des chutes de pluie ne dépasse guère 1200 mm et la saison sèche, au cours de laquelle la température s'abaisse parfois considérablement, s'étend sur 3 mois au Ruanda-Urundi pour atteindre 7 mois dans l'extrême Sud.

Nous distinguerons parmi ces zones:

A) *Les zones de transition submontagnardes* (1000 à 1200 m).

Toutes ces zones occupent les premiers contreforts occidentaux des montagnes de l'Est, et des plateaux du Haut-Katanga.

Elles sont caractérisées par une altitude de 1000 à 1200 m, des vallées encaissées avec galeries forestières.

Nous y distinguerons:

1. *La zone de transition submontagnarde équatoriale.*

S'étendant du massif du Ruwenzori aux monts Ugoma, elle marque la transition entre la forêt de l'Ituri et la zone de montagnes de l'Est.

Le climat y subit encore très fort l'influence de la proximité de la forêt équatoriale et est du type équatorial. La hauteur annuelle de pluies atteint jusque 2500 mm à certains endroits.

A. funestus et *A. gambiae* sont les principaux vecteurs de malaria de cette région.

2. *Le zone de transition submontagnarde du plateau central du Ruanda-Urundi.*

Cette zone occupe toute la partie centrale du Ruanda-Urundi, à l'Est de la crête Congo-Nil, et borde d'une étroite bande le versant occidental

de la crête Congo-Nil et le lac Kivu. Le climat y est beaucoup plus sec que celui de la zone de transition submontagnarde équatoriale et caractérisé par 3 à 4 mois de saison sèche et 1.000 à 1200 mm du chute annuelle de pluies. La température moyenne annuelle est notablement plus basse que dans la zone précédente, ne dépassant pas 21°C avec des minima de l'ordre de 14°C durant toute l'année déterminant une endophilie marquée des vecteurs.

La végétation est constituée de savane.

Dans le Ruanda-Urundi, le vecteur dominant est *A. funestus* tandis qu'autour du lac Kivu, on rencontre *A. gambiae*, *Anopheles pharoensis* Theobald et *Anopheles christyi* Newstead et Carter.

3. *La zone de transition submontagnarde Soudanienne.*

La plus étendue des zones de transition submontagnardes, cette zone s'étend en arc de cercle, du 4° Sud au 11° Sud, en bordant les lacs Tanganika et Moero et la frontière Sud-Ouest du Katanga.

Elle marque la transition entre la savane Sud et les massifs montagneux des bords du lac Tanganika et du Haut-Katanga. La végétation est en grande partie constituée de savane boisée.

Le climat y est du type soudanien. La chute annuelle des pluies varie de 1000 à 1200 mm et la saison sèche de 4 à 5 mois. Comme dans le cas de la zone de transition submontagnarde du plateau central du Ruanda-Urundi, la température moyenne annuelle est relativement basse, avec des minima de 14°C à certaines époques de l'année.

Comme principaux vecteurs de malaria on y signale *A. funestus* et *A. gambiae* on y rencontre également *Anopheles nili* Theobald et *A. pharoensis*.

B) *Les zones des hauts plateaux katangais* (1200 m et plus).

Le Haut-Katanga constitue une zone malariologique bien définie, caractérisée par l'altitude, une saison sèche de 6 mois et des températures minima inférieure à 0° C à certaines époques de l'année.

Les hauts plateaux katangais hébergent 10 espèces particulières d'Anopheles.

Le climat est subéquatorial, avec 6 à 7 mois de saison sèche et une chute annuelle de pluies de 1200 mm environ.

La population y est clairsemée et de faible densité (3 habitants au km^2).

La végétation est constituée notamment de savane boisée, en dessous de 1500 m, et de vastes étendues de savane herbeuse sur les plateaux et de forêts mésophylles et sclérophyles au dessus de 1500 m d'altitude.

D'après l'altitude, nous distinguerons:

1. *La zone des plateaux d'altitude inférieure à* 1500 *m.*

Cette zone qui occupe tout l'extrême Sud du Katanga et borde d'un étroit liseré les massifs de hauts plateaux est couverte de savane boisée.

L'indice plasmodique est elevé (parfois jusqu'à 90%).

A. funestus et *A. gambiae* y sont les principaux vecteurs de malaria; on y recontre également *A. nili.*

2. *La zone des plateaux d'altitude supérieure à* 1500 *m.*

Composée des plateaux de la Manika-Biane, des Kundelungu, de Monts Kibara et Mulumbe et des Marungu, cette zone forme ce qu'on appelle généralement les hauts plateaux katangais proprement dits.

La végétation est soit constituée par de la savane herbeuse, soit par des forêts mésophylles et sclérophyles.

Cette zone est peu peuplée, mais particulièrement riche en gibier.

Le principal vecteur de malaria est *A. funestus,* mais on y rencontre également *A. gambiae.*

C) *La zone des montagnes de l'Est* (1750 m et plus).

Cette zone, entièrement située au dessus de 1750 m d'altitude comprend, du Nord au Sud, les Monts Bleus, le massif du Ruwenzori, les monts Mitumba, les monts Ngoma et la crête Congo Nil.

La végétation est notamment constituée au-dessus de 2200 m, de forêts ombrophiles, de montagnes et de bambousaies.

Le températures moyennes mensuelles sont inférieures à 20°C.

La malaria y apparaît sous forme d'épidémies poursuivant l'homme et son agriculture.

La zone de montagnes de l'Est est caractérisée par la présence d'*Anopheles garnhami* Edwards et *A. christyi.*

V. *La zone des rives des grands cours d'eau et extensions marécageuses.*

Cette zone se répartit en petites étendues sur tout le territoire du Congo parmi les diverses grandes zones malariologiques. Elle est limitée aux rives des grands cours d'eau et des extensions marécageuses, où pullulent les mansonioïdes et, dans certaines régions, *A. moucheti.*

Les habitants de ces rives sont généralement des pêcheurs qui exercent leur métier la nuit étant soumis ainsi à la piqûre des *Culicidae* exophiles.

REMARQUE IMPORTANTE

Dix pour cent de la population du Congo et du Ruanda-Urundi est concentrée dans une trentaine de localités de plus de 5.000 habitants.

La lutte antipaludique intense, généralement appliquée dans les grandes agglomérations, font des localités à forte concentration humaine des régions exemptes de paludisme et les cas constatés ont la plupart du temps été contractés hors des limites de l'agglomération.

Il était indispensable d'attirer l'attention sur ce fait afin d'éviter que des données recueillies dans les grands centres ne soient utilisées à caractériser la région ou la zone dans laquelle elle se situe.

NOTICE ON THE MAP OF THE NATURAL MALARIAL AREAS OF THE CONGO REPUBLIC AND RUANDA-URUNDI

A general survey of the natural, malarial areas of the Congo Republic and Ruanda-Urundi, based on the study of the principal climatological and geographical conditions, and on the phytogeographical, orographical ,hydrographical and demographical, factors which influence the ecology of malaria, is given. The Congo and Ruanda-Urundi map is divided into five important groups of malarial areas:

— the littoral area
— the equatorial forest areas
— the savanna areas
— the areas of high table-land and Eastern mountains.
— the bank area of great rivers and the swamps zone.

A description of each area is given; all the above-mentioned factors are taken into account and the principal anophelines encountered in each zone, are enumerated.

BIBLIOGRAPHIE

F. BULTOT (1954): Notice de la carte des zones climatiques du Congo belge et du Ruanda-Urundi - Atlas général; Institut royal colonial belge, Bruxelles.

R. DEVRED: Carte de la végétation du Congo belge et du Ruanda-Urundi. Publiée par l'I.N.E.A.C.

E. EVERAERTS (1947): Monographie agricole du Ruanda-Urundi. Publication du Ministère des Colonies.

M. LIPS (1959): Anophèles du Congo belge - 1. Espèces particulières du Katanga. *Riv. di Paras.* XX, 165.

M. ROBERT (1942): Le Congo physique, 2ème édition. Ed. R. Stoops, Bruxelles.

W. ROBIJNS (1948): Les territoires phytogéographiques du Congo belge et du Ruanda-Urundi. Atlas général du Congo. Institut royal colonial belge, Bruxelles.

J. SCHWETZ (1944): Recherches sur le paludisme dans la Bordure Orientale du Congo belge. Institut Royal colonial belge, Bruxelles.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 3 - Settembre 1961

PHAGICOLA ITALICA (ALESSANDRINI, 1906) ED *HETEROPHYES HETEROPHYES* (SIEBOLD, 1852), PARASSITI DEL CANE IN SARDEGNA (*)

SALVATORE DEIANA (**)

Phagicola italica fu repertata da Alessandrini (1906) nel cane in Italia (Roma), da Witemberg (1929) nel cane in Egitto ed in Israele eppoi da Nardi (1959) nel cane e nella volpe ancora in Italia (Foggia).

Heterophyes heterophyes, parassita dell'intestino dell'uomo, del cane, del gatto, della volpe, del lupo, ecc., è comune in Egitto ed in Israele (Siebold, 1852; Looss, 1902; Witemberg, 1929), in Cina ed in Giappone (Onij e Nishio, 1916).

L'A. repertò entrambi gli Heterophydidi nell'intestino tenue di un cane nato e cresciuto in Sardegna (Alghero).

Dopo aver fatto la descrizione morfologica delle due specie parassitarie, l'A., avanza l'ipotesi che il cane possa essersi infestato mangiando pesci (muggini, ecc.) ospiti delle rispettive metacercarie ed originari dei mari di Paesi ove queste parassitosi sono comuni. L'A. ha pensato ad un'infestazione autoctona del cane ma dalle indagini finora esperite non risulta che in Sardegna esistano i primi ospiti intermedi (molluschi prosobranchi).

Nel corso di ricerche istituite per accertare la diffusione dei parassiti del cane in Sardegna, dall'intestino di un setter M, di otto anni circa d'età, furono raccolti, oltreché numerosi esemplari di Nematodi e di Cestodi, 17 piccoli Trematodi a forma grossolanamente di pera, dotati di frequenti movimenti di contrazione e di estensione della parte più assottigliata del corpo.

Previo prolungato lavaggio in acqua di fonte, i parassiti furono fissati in alcool a 70°, successivamente furono colorati con Ematossilina Carazzi - eosina, disidratati nella serie degli alcooli, chiarificati in salicilato di metile e montati su vetrini in balsamo del Canadà.

All'esame microscopico comparativo fu facile accertare che i suddetti Trematodi erano sessualmente maturi (ovigeri); ma appartenenti a due specie di diverse dimensioni.

(*) Comunicazione svolta al II Congresso Nazionale di Parassitologia (Roma-L'Aquila 17-21 maggio 1961).

(**) *Istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria - Centro di Studio del C.N.R. per la Parassitologia Veterinaria, Sassari* (Direttore: Prof. A. Carta).

Parassiti di minori dimensioni: n. 7 (Fig. 1).

Conformazione esterna. — Il corpo ha forma grossolanamente di pera con estremità anteriore assottigliata e lievemente incurvata dorso-ventralmente; la lunghezza varia da mm 0,73 a mm 0,76 e la larghezza da mm 0,33 a mm 0,36; il pseudoderma presenta numerosi microprocessi chitinosi, acuminati, disposti su file regolarmente alterne.

Ventosa anteriore ed acetabulum. — La ventosa anteriore, imbutiforme, è preterminale; ha diametro trasversale di 50-60 micron e longitudinale di 35-45 micron e presenta nel bordo esterno una corona radiale di 18-22 spine di natura chitinosa, appiattite dorso-ventralmente le quali sono lunghe da 18 a 20 micron e larghe 4-5 micron.

La ventosa orale si continua posteriormente con una appendice triangolare compatta, la quale accompagna dorsalmente il prefaringe per 3/4 circa della sua lunghezza, assottigliandosi man mano verso l'estremità distale che risulta lievemente piegata lateralmente.

L'*acetabulum*, pressoché circolare, è posto un po' al disotto della metà della lunghezza del corpo ed ha diametri variabili da 85 a 95 micron.

Prefaringe, faringe, esofago ed intestino cieco. — Il prefaringe, negli esemplari perfettamente distesi, appare sotto forma di un sottile canale lungo 100-120 micron; il faringe ha forma ovale ed è largo 45-50 micron, lungo 55-60 micron e possiede parete muscolare relativamente robusta.

L'esofago ha le stesse caratteristiche del prefaringe ed è lungo da 80 a 90 micron; i due rami ciechi dell'intestino che originano dall'estremità distale, si dirigono in senso latero-posteriore e terminano a livello dell'ovario.

Testicoli, ovario ed atrio genitale comune. — I testicoli, disposti simmetricamente nella parte posteriore del corpo, sono rappresentati da due masse rotondeggianti o lievemente ovalari, di diametro variabile da 70 a 90 micron; risultano parzialmente nascosti dai vitellogeni e dalle anse uterine.

L'ovario, di forma rotondeggiante, è situato anteriormente al testicolo destro ed ha il diametro di 50-65 micron.

L'atrio genitale comune (ventosa genitale) è rappresentanto da una piccola formazione discoidale disposta antero-lateralmente all'*acetabulum*.

Utero, vitellogeni e vescicola escretrice. — L'utero, allorché è completamente ripieno di uova, occupa lo spazio compreso fra i testicoli e l'*acetabulum;* le anse uterine ricoprono allora parzialmente i testicoli e l'ovario.

Le uova, di forma ovale e di colorito giallo-scuro, misurano 18-20 micron di lunghezza e 13-15 micron di larghezza.

I vitellogeni sono rappresentati da formazioni ghiandolari raggruppate per ciascun lato le quali occupano le parti latero-posteriori del corpo e si estendono nella zona compresa tra l'ovario ed i testicoli. I vitellogeni trasversi appaiono sotto forma di due sottili cordoni compatti a decorso latero-mediale, che si uniscono fra loro al di sopra dei testicoli.

La vescicola escretrice ha forma di Y e la branca terminale appare sotto forma di una fessura disposta tra i due testicoli.

Parassiti di maggiori dimensioni: n. 10 (Fig. 2).

Conformazione esterna. — Il corpo, a forma grossolanamente di pera, misura da mm 1,5 a mm 1,6 di lunghezza per mm 0,70-0,72 di larghezza a livello dell'*acetabulum*.

Il pseudoderma è ricoperto da microprocessi spinosi a forma di cuneo affilato, disposti su file trasversali regolarmente alterne, che nella parte anteriore del corpo risultano molto fitti e ben sviluppati; misurano, compresa la porzione d'impianto nel pseudoderma, da 5 a 6 micron di lunghezza. Nella parte posteriore del corpo, invece, diventano man mano più radi e più corti: mancano completamente nella parte caudale.

Ventosa anteriore ed acetabulum. — La ventosa anteriore, subterminale, ha forma di coppa, con diametro trasversale variabile da 80 a 90 micron e longitudinale da 80 a 100 micron.

L'*acetabulum* posto nella parte mediana del corpo, misura 260-280 micron di larghezza e 240-250 micron di lunghezza.

Prefaringe, faringe, esofago ed intestino cieco. — La ventosa anteriore si continua

col prefaringe il quale è rappresentato da un sottile canale di 90-100 micron di lunghezza; il faringe, di forma ovale, possiede parete muscolare piuttosto spessa ed ha un diametro trasversale di 45-50 micron e longitudinale di 50-65 micron.

L'esofago, come il prefaringe, possiede parete molto sottile e, a seconda dello stato di contrazione del corpo, misura da 170 a 240 micron. Dalla estremità distale, posta anteriormente all'*acetabulum*, originano i due rami dell'intestino cieco che si dirigono in senso latero-posteriore e raggiungono i testicoli.

Testicoli, ovario ed atrio genitale comune. — I testicoli sono rappresentati da due masse ovalari disposte simmetricamente nella parte caudale del corpo, separate fra loro da uno spazio in cui è posta la branca terminale della vescicola escretrice.

Il testicolo destro, più grande del sinistro, ha diametro trasversale di 180-200 micron e longitudinale di 150-170 micron. Il diametro trasversale del testicolo sinistro varia da 160 a 180 micron: quello longitudinale da 120 a 140 micron.

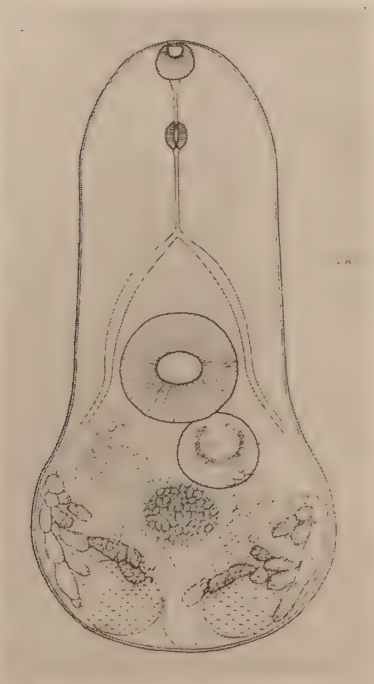


Fig. 1 - *Heterophyes heterophyes*

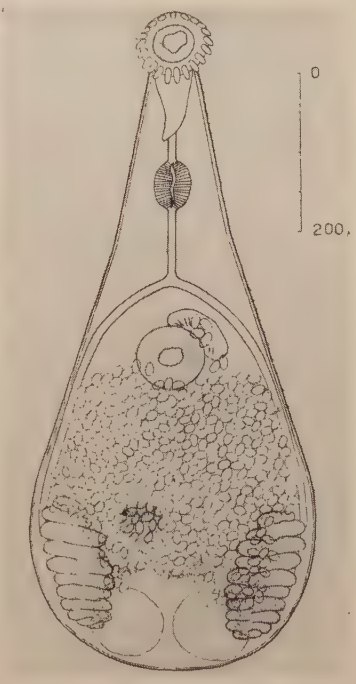


Fig. 2 - *Phagicola (Parascocotyle) italica*

L'ovario, globoso, situato anteriormente ai testicoli nella linea mediana del corpo, misura 115-140 micron di diametro.

L'atrio genitale è rappresentato da una formazione discoidale di 140-170 micron di diametro, posta latero-ventralmente all'*acetabulum* e provvista di una corona radiale di 68-72 sottilissime formazioni chitinose, lunghe 16-18 micron (atrio genitale comune o ventosa genitale).

Utero, vitellogeni e vescicola escretrice. — L'utero occupa lo spazio compreso tra i testicoli e l'*acetabulum* non superando mai, lateralmente, i rami dell'intestino cieco.

Le uova, di forma ovoidale e di colorito giallo-bruno, hanno diametri di 12-16 micron per 26-28 micron.

I vitellogeni sono costituiti da gruppi ghiandolari molto spesso digitiformi, disposti lateralmente nello spazio compreso tra i testicoli e l'*acetabulum*.

La vescicola escretrice, conformata ad Y, occupa lo spazio intertesticolare; la branca terminale retta, risulta generalmnete dilatata sotto forma di vescicola.

Le caratteristiche morfologiche dei Trematodi suddescritti ci consentono di elencare alcuni coefficienti tassonomici comuni ad entrambe le specie e cioè:

1) corpo allungato, piriforme, ricoperto da microprocessi spinosi disposti su file alterne;

2) ventosa orale, prefaringe e faringe presenti;

3) intestini ciechi che superano l'*acetabulum;*

4) *acetabulum* ben sviluppato;

5) testicoli simmetrici posti nella parte posteriore del corpo;

6) ovario submediano, pretesticolare;

7) atrio genitale comune modificato in formazione discoidale, borsa del cirro assente;

8) vitellogeni formanti gruppi ghiandolari disposti lateralmente alla linea mediana, nella metà posteriore del corpo;

9) utero che si estende nello spazio compreso tra i testicoli e l'*acetabulum*.

I caratteri tassonomici comuni ai Trematodi in esame corrispondono a quelli delle specie appartenenti alla famiglia *Heterophydidae* (Odhner, 1914), le cui caratteristiche, secondo Yamaguti (1958) p. 865 sono: « Trematodi distomidi di piccole dimensioni con superficie del corpo ricoperta di spine. Ventosa orale e faringe presenti. Ciechi lunghi oppure corti, eccezionalmente singoli, che raramente si aprono nelle vicinanze oppure entro la vescicola escretrice.

L'*acetabulum* può risultare ben sviluppato oppure atrofico, disposto medialmente o submedialmente, non incluso nell'atrio genitale. Testicoli doppi, disposti diagonalmente oppure simmetrici, occasionalmente singoli, posti sempre nella parte mediana del corpo. Vescicola seminale ben sviluppata. Borsa del cirro assente. Atrio genitale variamente modificato contenente uno o diversi gonotipi.

L'ovario è generalmente submediano, posto anteriormente ai testicoli. *Receptaculum seminis* e canale di Laurer generalmente presenti. Vitellogeni diffusi o raggruppati sotto forma di follicoli disposti in posizione latero-posteriore. Utero disposto tra il poro genitale e i testicoli o l'estremità posteriore, più o meno ravvicinato ai margini laterali del corpo. Uova piccole embrionate. Vescicola escretrice conformata a V, Y oppure a T, occasionalmente sacculare, steli con rami laterali o no ».

* * *

In considerazione del fatto che i Trematodi di minori dimensioni da noi repertati, sono provvisti di ventosa anteriore con corona semplice di spine circumorali, di un appendice a forma di lingua che fa seguito inferiormente a detta ventosa e di vitellogeni limitati nella loro estensione

longitudinale allo spazio compreso tra i testicoli e l'ovario, sono da ascrivere al genere *Phagicola* (Faust, 1920), sin.: *Parascocotyle* (Stundkard ed Haviland, 1924), che comprende varie specie tra le quali le seguenti sono state descritte in mammiferi:

Phagicola ascalonga (Witemberg 1929);
Phagicola arnoldi (Travassos, 1929);
Phagicola minuta (Looss, 1899);
Phagicola longa (Ramson, 1920);
Phagicola sinoecum (Ciurea, 1933);
Phagicola italica (Alessandrini, 1906).

Come è noto, le suddette specie presentano in comune alcuni caratteri morfologici, come, per es., la forma del corpo, la presenza di microprocessi spinosi nel pseudoderma, la forma e la posizione dei testicoli e dell'ovario, ecc., che hanno portato non infrequentemente a varie sinonimie.

Per la differenziazione degli esemplari di *Phagicola* da noi repertati, abbiamo preso, perciò, in maggior considerazione, come consiglia Witemberg (1929), il numero e la morfologia delle spine circumorali, la conformazione e i limiti della espansione posteriore della ventosa orale, la lunghezza degli intestini ciechi e soprattutto la disposizione e la conformazione dei vitellogeni.

In base all'esame comparativo di questi ultimi caratteri il parassita in istudio differisce da *Phagicola ascalonga,* nel quale l'appendice posteriore della ventosa orale raggiunge il faringe, mentre l'esofago è pochissimo sviluppato; da *Phagicola minuta* che possiede spine circumorali a sezione rotondeggiante; rami dell'intestino cieco cortissimi i quali terminano a livello dell'*acetabulum* e vitellogeni suddivisi per ciascun lato in 5-6 follicoli distinti. Non è identificabile con *Phagicola longa* nel quale l'appendice posteriore della ventosa orale abbraccia dorso-ventralmente il prefaringe e si estende sino al faringe, mentre, i vitellogeni sono costituiti da 9-12 masse follicolari distinte disposte lateralmente a ciascun testicolo; né con *Phagicola arnoldi* in cui l'appendice posteriore della ventosa orale è molto robusta e raggiunge il faringe mentre i vitellogeni risultano suddivisi in 9-12 masse follicolari per ciascun lato. Differisce, infine, da *Phagicola sinoecum* nel quale i rami ciechi dell'intestino si estendono sino al margine posteriore dei testicoli ed i vitellogeni sono suddivisi in 8-9 masse follicolari.

E' identificabile, invece, con *Phagicola italica,* il quale è provvisto di corona circumorale di 18-20 microprocessi chitinosi, di appendice posteriore della ventosa orale che accompagna dorsalmente per 3/4 di lunghezza il prefaringe e, a differenza delle specie di *Phagicola* prima considerate, è provvisto di vitellogeni formanti masse compatte. I limiti di variabilità della forma e delle dimensioni del corpo e dei vari

organi (ventosa orale, spine circumorali, prefaringe, faringe, esofago, intestini ciechi, *acetabulum*, ventosa genitale, ovario, testicoli, ecc.) attribuiti a questa specie da Alessandrini (1906) e da Witemberg (1929) collimano perfettamente con quelli da noi rilevati nei nostri esemplari che, pertanto, identifichiamo con *Phagicola italica* (Alessandrini, 1906).

* * *

Gli esemplari di maggiori dimensioni, poiché provvisti di atrio genitale comune discoidale (c.d. ventosa genitale), di intestini ciechi allungati e di ovario pretesticolare sono stati giudicati appartenenti al genere *Heterophyes* (Cobbold, 1886) di cui sono parassiti intestinali dei mammiferi le seguenti specie:

Heterophyes aequalis (Looss, 1902);
Heterophyes dispar (Looss, 1902);
Heterophyes heterophyes (Siebold, 1852);
Heterophyes nocens (Onji e Nishio, 1916);
Heterophyes katsuradai (Ozaki e Asada, 1926).

H. nocens ed *H. katsuradai* rappresentano le due specie di *Heterophyes* diffuse in Oriente (Cina e Giappone) le quali, essendo poco differenziabili in base alle caratteristiche morfologiche da *H. heterophyes*, vengono considerate dalla maggior parte degli elmintologi (Witemberg, 1929; Yamaguti, 1958; Skriabine, 1948) sinonimi di quest'ultima specie e, pertanto, non verranno da noi presi in considerazione.

In base all'esame comparativo delle dimensioni e delle caratteristiche morfologiche, gli esemplari di *Heterophyes* da noi repertati differiscono da *H. dispar* per la forma del corpo (ovale anziché piriforme) e da *H. aequalis* per le minori dimensioni del corpo (0,4-0,9 mm di lunghezza per 0,2-0,4 mm di larghezza). Da entrambe le suddette specie si distinguono, inoltre, per la forma ed il numero dei segmenti chitinosi che armano l'atrio genitale comune o ventosa genitale (25-30 elementi in *H. dispar* e 15-35 elementi in *H. aequalis*).

Risultano perfettamente identici, invece, ad *Heterophyes heterophyes* sia per la forma e le dimensioni del corpo che sono comprese entro i limiti di variabilità attribuiti da Witemberg (1929) a questa specie, che per le caratteristiche morfologiche (dimensioni e posizione reciproca degli organi e cioè, della ventosa anteriore, dell'*acetabulum*, del prefaringe, del faringe, dell'esofago, degli intestini ciechi, dei vitellogeni, dell'ovario, dei testicoli, ecc.). In particolare sono da identificare con *Heterophyes heterophyes* per le peculiari caratteristiche della ventosa genitale la quale, come prima detto, è rappresentata da una formazione discoidale di 140-170

micron di diametro ed è munita di 68-72 segmenti chitinosi proprio come in *H. heterophyes*.

* * *

Come si è prima detto *Phagicola italica* fu segnalata per la prima volta da Alessandrini (1906) che la repertò in cuccioli alimentati con lucci pescati nel lago di Bracciano. L'infestazione fu poi repertata da Witember (1929) in cani e in gatti dell'Egitto e di Israele e recentemente da Nardi (1959) che trovò il parassita in cani e volpi nella provincia di Foggia.

Per quel che mi è dato sapere nessun'altra segnalazione del parassita esiste in letteratura.

D'interesse ancora maggiore è il reperto di *Heterophyes heterophyes*, poiché mai finora fu segnalato in Europa.

Heterophyes heterophyes è stato repertato, invece, nell'uomo, nel cane, nel gatto, nella volpe, nel lupo, ecc., in Egitto (Siebold, 1852; Looss, 1902; Witemberg, 1929), Cina e Giappone (Onij e Nishio, 1916) e Israele (Witemberg, 1929).

Come è noto, i primi ospiti intermedi del suddetto Trematode sono molluschi prosobranchi dei generi *Pirenella, Melania, Cleopatra,* ecc., ed i secondi ospiti sono pesci dei generi *Mugil, Barbus, Tilacchia,* ecc.. (Asada, 1928; Faust, 1928; Ciurea, 1933; Kalil, 1933, ecc.).

Pertanto, è ovvio che la parassitosi è propria dei luoghi dove si trovano il primo ed il secondo ospite intermedio; ma può manifestarsi anche dove arrivano pesci dei sopra elencati generi che, infestati da metacercarie provengano dai paesi più sopra menzionati. La parassitosi può repertarsi, quindi, anche in località ove non esistono i primi ospiti intermedi.

Se così è, come effettivamente sembra, si potrebbe esser indotti a pensare che il reperto di *Heterophyes heterophyes* nel cane da noi sezionato possa essere stato occasionale. Il soggetto, nato e vissuto in luogo di mare (Alghero), potrebbe essersi infestato mangiando pesci parassitati provenienti da altri mari, come per es., dell'Egitto, ecc.

L'ipotesi, nel caso, potrebbe aver valore anche per l'infestazione da *Phagicola italica*. Difatti anche questa specie parassitaria si ritiene venga trasmessa da pesci infestati da metacercarie.

Ma con ciò non si esclude che entrambe le parassitosi repertate possano essere autoctone: non sappiamo se in Sardegna esistano oppure no i primi ospiti intermedi delle sopra menzionate specie parassitarie.

Una indagine intrapresa col fine di accertare, appunto, la presenza nell'Isola di molluschi primi ospiti delle specie parassitarie descritte non ci ha consentito di trarre conclusioni definitive perché, ancora, la ricerca

non è stata sufficientemente estesa. Eppertanto scopo di questo studio rimane quello di segnalare il reperto in Sardegna di due specie parassitarie che non erano state finora osservate e di cui una, *Heterophyes heterophyes*, viene segnalata per la prima volta nel continente europeo.

PHAGICOLA ITALICA (ALESSANDRINI 1906) ED *HETEROPHIES HETEROPHIES* (SIEBOLD, 1852) PARASITES OF THE DOG IN SARDINIA.

In a dog born and bred in Sardinia (Alghero) some specimens of small-sized Heterophydides (0,82 × 0,36 mm and 1,8 × 0,8 mm) have been found, which from their morphological characters could be identified as *Phagicola italica* and *Heterophyes heterophyes*.

Phagicola italica has been found in dogs respectively by Alessandrini (1906) in Italy (Rome), by Witemberg (1929) in Egypt and Israel, by Nardi (1959) in dogs and foxes, again in Italy (Foggia).

Heterophes heterophyes, an intestinal parasite of man, dog, cat, fox, woolf, pellican etc. is frequently met with in Egypt, China and Japan, whereas it never has been signalled on the European Continent.

After offering a morphological description of the species of parasites encountered, the A. raises the hypothesis that the dog's contamination might have come about by it's having eaten fish, such as mullets and the like, infested by the respective metacercoid forms and coming from shores where these parasitical infestations are of frequent occurrence.

Besides, the A. considers the possibility of an autoctonous infestation. This would imply the existence, in Sardinia, of the first intermediate hosts (prosobranchial molluscs), which hypothesis, however, has so far not been confirmed by the results of investigations conducted to this purpose.

BIBLIOGRAFIA

ALESSANDRINI G. (1906) - Su di una specie del gen.: *Ascocotyle* Lss. rinvenuta parassita del cane. Nota preventiva. *Boll. Soc. Zool. Ital., 15,* 221-224.

ASADA J. (1928) - Studies on the human trematodes of the genus *Heterophyes* occurring in Japan I. Determination of the first intermediate host of *Heterophyes heterophyes* and experimental investigation into its life history. *I. Exper. Med., 12,* 1-50.

CIUREA I. (1933) - Les poissons de la Mer Noire comune source d'infestation par les trématodes de la famille des heterophyidés et des echinostomidés. *Arch. Roum. Pat. Exp. et Microbiol., 4,* 289-299.

KHALIL (1933) - The life history of the human trematode in Egypt. *Lancet, 225,* 537.

LOOSS A. (1902) - Eine Revision der Fasciolidengattung *Heterophyes* Cobb. (Notizien zur Helminthologie Aegyptens) *Ztbl. Bakt. I. Orig., 32,* 886-891.

NARDI E. (1959) - Su di un Trematode parassita intestinale del cane e della volpe. *Vet. It., 10,* 158-162.

ONJI Y., NISHIO T. (1916) - On intestinal distomes. *Iji Shinbun. n. 949,* 589-593.

YAMAGUTI S. (1958) - Sistema Helminthum, Vol. *1,* Digenetic Trematodes. Interscience New York.

OZAKI Y., ASADA J. (1926) - A new human trematode, *Heterophyes katsuradai* n. sp. *J. Parasit., 12,* 216-218.

WITEMBERG G. G. (1929) - Studies on the trematode family Heterophydae. *Ann. Trop. Med. Parasit., 23,* 131-239.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 3 - Settembre 1961

SU UNA CAPILLARIOSI EPATICA IN TROTE DI ALLEVAMENTO E IN ALTRI TELEOSTEI DELLE ACQUE LIBERE DEL BACINO DEL PO IN PIEMONTE, CON DESCRIZIONE DI UNA NUOVA SPECIE (*CAPILLARIA EUPOMOTIS*).

PIETRO GHITTINO (*)

Viene segnalata per la 1ª volta in Italia una Capillariosi nel fegato di trote di allevamento *(Salmo gairdnerii, Salmo trutta)* e di alcuni Teleostei *(Eupomotis gibbosus, Phoxinus phoxinus, Leuciscus souffia muticellus, Leuciscus cephalus cabeda)* catturati nelle acque del bacino del Po in Piemonte. La parassitosi è con tutta probabilità trasmessa alle trote di allevamento mediante somministrazione, sotto forma di cibo crudo, dei pesci selvatici infestati. Viene data la descrizione del parassita, isolato intero dal fegato di *Eupomotis gibbosus* e di *Salmo gairdnerii;* esso è ritenuto riferibile ad una nuova specie e denominato *Capillaria eupomotis*.

Nel corso di uno studio sistematico della patologia del fegato di trote di allevamento (*Salmo gairdnerii, Salmo trutta*) effettuato in questi ultimi quattro anni su materiale proveniente da pisciculture del Piemonte e del Vicentino, ho avuto modo di rilevare una alterazione che interessava quest'organo in modo per lo più vistoso e che si scostava dalle altre numerose forme patologiche che con frequenza ricorrono in questi pesci. Nei casi più lievi il fegato appariva cosparso, sia in superficie che al taglio, di formazioni puntiformi biancastre di grandezza miliare; in quelli più gravi invece l'organo risultava nel suo insieme decisamente alterato, con superficie granulosa, cosparsa di punti rilevati bianco-nerastri, di colore grigio-terreo e di consistenza friabile.

L'esame microscopico di tali formazioni, eseguito per schiacciamento, rivelava presenza di numerosissime uova di aspetto limoniforme, con due tappi polari, e di frammenti di una parassita filiforme, le cui caratteristiche si avvicinavano a quelle dei Nematodi.

Partendo dal presupposto che una tale parassitosi avrebbe dovuto essere trasmessa per via digerente, ho eseguito un'indagine circa la composizione annuale della dieta che veniva somministrata alle trote appartenenti ad allevamenti parassitati e a quella somministrata in alleva-

(*) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte e della Liguria - Torino. Centro per lo Studio delle Malattie dei Pesci* (Direttore: Prof. Dott. A. Serra).

menti sani. A mio avviso, era infatti improbabile una trasmissione attraverso l'ambiente, in quanto i pesci erano tenuti in vasche di cemento non contenenti alimenti naturali. Ho potuto così accertare che solo in quelle trote che erano state alimentate, in maniera anche saltuaria, con pesci di acqua dolce crudi si riscontrava la parassitosi in questione, mentre non è stata mai trovata in quelle trote che ricevevano altri alimenti (pesci di mare, residui di macellazione diversi, mangimi secchi, ecc.). La mia attenzione si rivolgeva perciò a questi pesci di acqua dolce.

Si trattava di pesciame misto, di scarso valore commerciale, il quale proveniva dalla vasta *zona a ciprinidi* appartenente al bacino del Po. Fra tutto il materiale esaminato, catturato nella zona del Piemonte, ho avuto modo di riscontrare con grande frequenza una parassitosi, in tutto simile a quella ritrovata nelle trote, nel fegato di *Eupomotis gibbosus* e di *Phoxinus phoxinus* (percentuale di colpiti di circa l'80%), nel fegato di *Leuciscus souffia muticellus* (circa il 50%) e casi isolati anche in quello di *Leuciscus cephalus cabeda.*

I pesci parassitati non presentavano alterazioni evidenziabili esternamente. All'apertura della cavità celomatica, il fegato appariva più o meno lesionato, a seconda del grado di infestazione e della specie esaminata. Generalmente il fegato di *E. gibbosus* non era alterato in maniera evidente, se non in rari casi: esso presentava allora, sia alla superficie che al taglio, macchie giallastre a disegno arborescente oppure appariva aumentato di volume, di colore grigio terreo e di consistenza gommosa. Il fegato di *L. souffia muticellus* appariva di frequente vistosamente alterato, di colore grigiastro sporco, quasi completamente sostituito da numerosi nodulini più chiari di grandezza submiliare e di consistenza friabile. Un quadro analogo, seppure più attenuato, presentava di solito anche il fegato dei *Ph. phoxinus* infestati. Nei pochi casi di infestazione del *L. cephalus cabeda* finora ritrovati, il fegato appariva cosparso in tutta la superficie ed in tutto il parenchima di nodulini biancastri ben delimitati ed appariva di colore bruno chiaro.

Quadri patologici analoghi erano riscontrabili anche nelle trote di allevamento infestate. Nei riproduttori, sia di trota iridea che di trota fario, si notavano per lo più formazioni puntiformi bianche, di grandezza miliare, situate sulla superficie del fegato e nel suo interno. Nelle trote iridee-porzione si potevano rinvenire con frequenza lesioni vistose dell'organo: esso si presentava allora di colore grigio-nerastro variegato, con superficie granulosa, e di consistenza friabile; in questi pesci poi tali alterazioni potevano associarsi e sovrapporsi ad altre forme di alterazioni epatiche preesistenti, in special modo con la *degenerazione lipoidea epatica* o con la *cirrosi epatica,* stati morbosi cronici che derivano da errori di alimentazione (Ghittino, 1961). In particolare, quando era presente la

cirrosi epatica si notavano piccole formazioni nodulari bianche o nerastre rilevate, comprese fra i grandi noduli iperplastici del fegato e più visibili nella porzione caudale dell'organo.

ESAME ISTOLOGICO DEL FEGATO

Nel fegato dei pesci infestati, oltre a sezioni di parassiti sorpresi durante la migrazione attraverso il parenchima, si rinvengono molte uova isolate oppure riunite in gruppi di varie dimensioni. Nell'interno di queste uova si notano ammassi di sostanza granulare che si tinge intensamente coi colori nucleari, mentre il guscio prende i colori citoplasmatici; i tappi che chiudono i poli si colorano in azzurro col Mallory-Azan ed in rosso vivo col PAS sec. McManus.

Pur essendo presumibilmente uguale il meccanismo di migrazione del parassita e di deposizione delle uova, la reazione dell'ospite varia per intensità nelle differenti specie esaminate.

Nel fegato delle trote di allevamento infestate si notano uova isolate o riunite in ammassi di varie dimensioni, in alcuni noduli in numero di parecchie decine. Questi accumuli di uova corrispondono ai nodulini bianchi, di grandezza miliare, riscontrati all'esame macroscopico e sono particolarmente frequenti nel fegato dei riproduttori. In tali casi è visibile una sottile capsula, costituita da fibrociti e da esili fibre collagene, che circonda completamente il nodulo parassitario e invia sepimenti verso l'interno di esso (fig. 10). Talvolta, specie nei noduli più piccoli, si può rinvenire un parassita avvolto su se stesso a spirale e scarso numero di uova miste a detriti cellulari ed elementi di infiltrazione (fig. 11). Nelle trote iridee-porzione la parassitosi assume carattere infiltrativo. Ammassi di uova di dimensioni rilevanti, accanto a uova sparse, si trovano localizzate nel connettivo epatico enormemente aumentato e miste ad abbondanti depositi di melanina (fig. 12). In molti casi si nota anche la presenza di fenomeni di *degenerazione lipoidea epatica* e di cirrosi epatica, lesioni queste che presentano una fisionomia propria e sono alquanto frequenti nelle trote di allevamento alimentate in maniera irrazionale. In tali casi non è possibile stabilire con certezza quale ruolo giochi nel provocare l'enorme aumento connettivale, l'azione dei parassiti, per cui non si può parlare di cirrosi epatica parassitaria con tranquillità. L'argomento merita ulteriore studio, e ritengo che potrebbe essere risolto mediante prove di trasmissione sperimentale.

Negli altri pesci selvatici infestati la parassitosi presenta quadri molto simili a quelli rilevati nelle trote di allevamento.

Nell'*E. gibbosus,* specie più costantemente infestata, le uova del parassita determinano per lo più scarsa reazione da parte del fegato. Esse

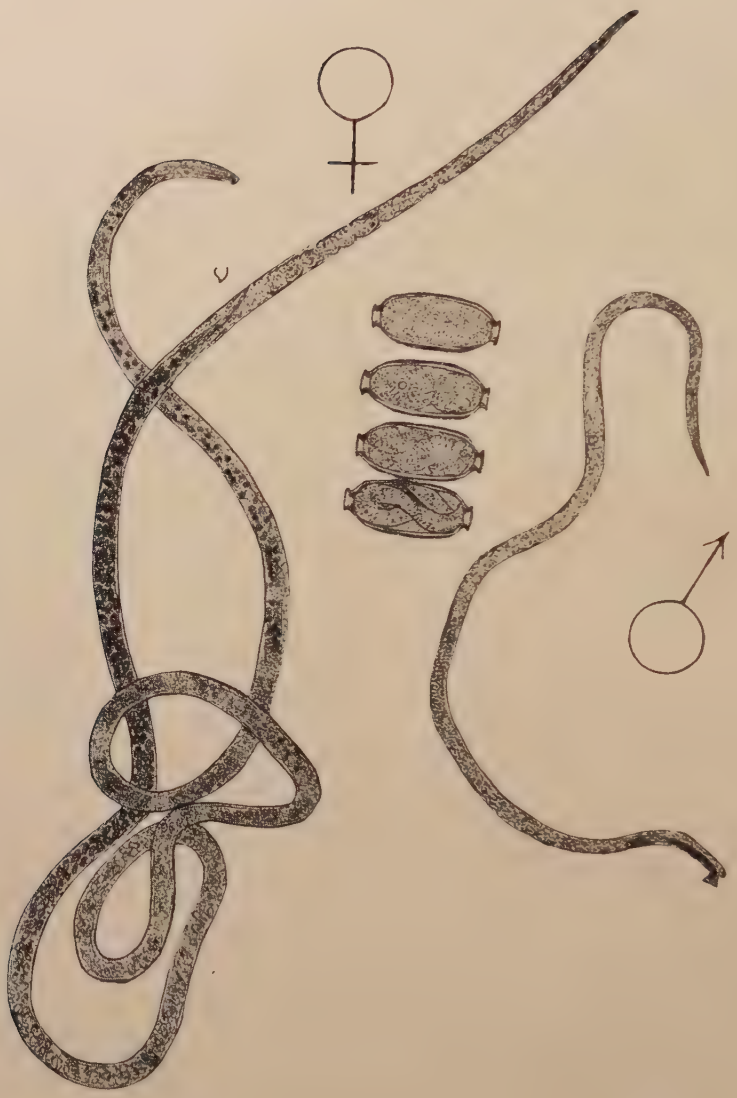


Fig. 1 - *Capillaria eupomotis* n. sp.: maschio e femmina, isolati dal fegato di *Eupomotis gibbosus*, ed uova in diversi stadi di embrionamento. V, vulva.

si rinvengono circondate da una capsula connettivale di 14 micron di spessore circa, o addirittura a contatto con epatociti indenni (fig. 6).

Ben diverso è il quadro che si presenta all'esame dei fegati di *L. soufflia muticellus* e del *Ph. phoxinus* parassitati. Nella prima specie si rinvengono quasi costantemente formazioni sferoidali, del diametro di 150-280 micron, costituite da numerosi strati di cellule di natura connettivale, le

quali possono occupare la maggior parte del parenchima epatico ed interessare altresì il pancreas ed il tessuto adiposo che lo compenetra (fig. 7). Queste formazioni risultano di una parte esterna chiara, costituita da parecchi strati di cellule di aspetto epitelioide, di 50-70 micron di spessore, e di una o più capsule interne, costituite da strati compatti di cellule piccole a nucleo affusato, a citoplasma orangiofilo e a contorni poco evidenti, di 140-200 micron di diametro (fig. 8). Tra queste formazioni di natura connettivale, il parenchima epatico non appare sofferente che in minima parte. Anche i fegati di *Ph. phoxinus* risultano interessati da formazioni reattive simili a quelle or ora descritte, seppure in grado meno accentuato (fig. 9). Forse la maggiore o minore intensità della reazione da parte del fegato è legata non solo alla specie, ma anche al più o meno lungo periodo di infestazione.

DESCRIZIONE DEL PARASSITA

Mentre all'epoca dei primi reperti (1957) si erano evidenziate soltanto uova e frammenti di parassiti nei fegati di pesci colpiti, ultimamente, in seguito a numerosi tentativi, sono riuscito a separare dal fegato di *E. gibbosus* numerose forme parassitarie adulte ed intere. Tale reperto più tardi si è ripetuto in alcuni fegati di trote iridee di allevamento. Dalle altre specie ittiche infestate non mi è stato ancora possibile isolare parassiti interi, ma soltanto uova di forma e dimensioni identiche a quelle descritte. Questo fatto è forse da mettersi in relazione alla struttura del fegato il quale, mentre nell'*E. gibbosus* e nella trota è un organo compatto, nelle rimanenti specie, come in tutti i ciprinidi, ha configurazione lobata sparsa fra le anse intestinali ed il pancreas disseminato misto a tessuto adiposo. Pertanto darò qui di seguito la descrizione del parassita isolato dal fegato di *E. gibbosus* e di *S. gairdnerii*.

Ho potuto osservare una cinquantina di parassiti interi isolati dal fegato di numerosi *E. gibbosus* e di alcune trote iridee di allevamento. Essi sono di colore biancastro, di aspetto filiforme e di consistenza fragile. Si rinvengono due forme di lunghezza diversa, la più lunga corrispondente alla femmina, (che risulta più numerosa), la più corta al maschio. Si possono ritrovare talora forme embrionarie o immature.

Diagnosi: *Capillaria* con cuticola liscia. Estremità anteriore sottile e affusata. Bocca piccola, in cui è visibile talora un labbro leggermente prominente.

Femmina. Misure in millimetri. Lunghezza 12-15 (anche 20-22).

La larghezza che è minima alla sottilissima estremità anteriore, larga appena 0,020-0,023, aumenta progressivamente a 0,070 subito dietro la

vulva, raggiunge il suo massimo a livello dell'utero (0,090-0,150) e torna a diminuire verso l'estremità caudale (0,070). La porzione anteriore (esofagea) è lunga 2,5-3,0 e comprende una prima parte di esofago visibile lunga 0,25-0,33 e una seconda parte delle cellule adesofagiche lunga 2,11-2,52. Rapporto fra porzione anteriore e porzione posteriore oscillante tra 1 : 4,7 e 1 : 5.

Estremità posteriore a terminazione smussa e rotonda; ano terminale. Vulva semplice che si apre a 2,5-3,0 dall'estremità anteriore e a 0,14-0,15 dalla fine delle cellule adesofagiche. La vagina è scarsamente evidente,

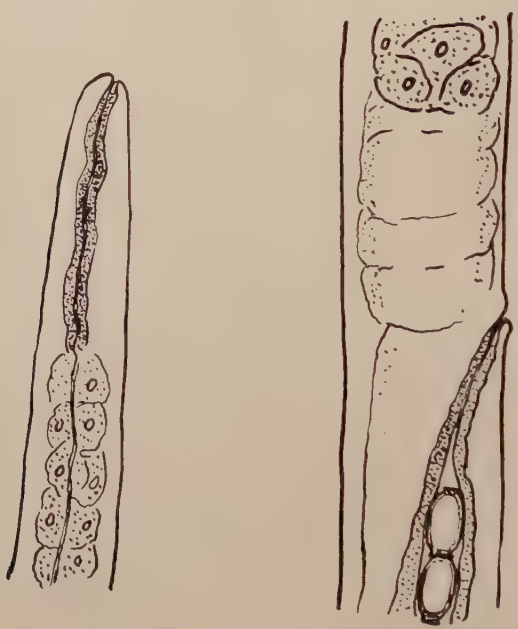


Fig. 2 - *Capillaria eupomotis* n. sp.: estremità cefalica (a sinistra) e regione vulvare (a destra) della femmina

poco muscolosa e contiene uova disposte in fila semplice. Uova di forma ovalare allungata con guscio spesso e lievemente ondulato, con due tappi polari prominenti alle estremità apicali; lunghe 0,056-0,059 esclusi i tappi e 0,060-0,065 se misurata con i tappi; larghe 0,028; contenuto suddiviso in 2 o più blastomeri oppure di aspetto granulare uniforme o costituito da un embrione avvolto su se stesso a forma di doppio 8.

Maschio. Lunghezza 5-6 (talora 8); larghezza minima 0,017-0,020, mediana 0,060-0,073, massima 0,076. Esofago visibile per breve tratto (0,20-

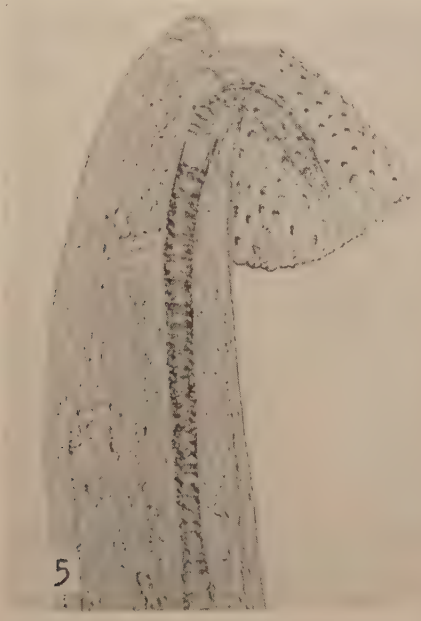


Fig. 3 - *Capillaria eupomotis* n. sp.: uova a diverso stadio di embrionamento. (× 468).

Fig. 4 - *Capillaria eupomotis* n. sp.: estremità caudale della femmina. (× 154)

Fig. 5 - *Capillaria eupomotis* n. sp.: estremità caudale del maschio con l'apparato copulatore. (× 400).

0,35). Porzione anteriore delle cellule adesofagiche lunga 2,38-2,40. Rapporto tra porzione anteriore e porzione posteriore oscillante tra 1 : 2,1 e 1 : 3,7. Estremità caudale con apparato copulatore costituito da uno spicolo scarsamente chitinizzato, il quale appare sotto forma di una specie di fodero membranoso lungo 0,20-0,28, largo 0,008-0,011, striato nella sua parte prossimale; esso può sporgere per breve tratto al di fuori del corpo del parassita; a questo livello è visibile una guaina dello spicolo, più o meno espansa, con bordo circolare frangiato, del diametro di 0,042, sulla quale si impiantano numerosi piccoli aculei (fig. 5).

Habitat: fegato di *Eupomotis gibbosus, Phoxinus phoxinus, Leuciscus cephalus cabeda, Salmo gairdnerii, Salmo trutta;* fegato e pancreas disseminato di *Leuciscus souffia muticellus*.

Distribuzione geografica: Acque dolci appartenenti al bacino del Po (*zona a ciprinidi*) del Piemonte. Italia.

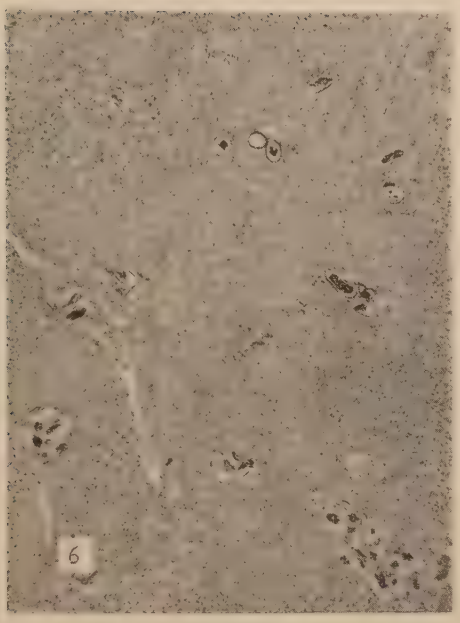
Typus: presso il Museo Ittiopatologico dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte e della Liguria. Torino.

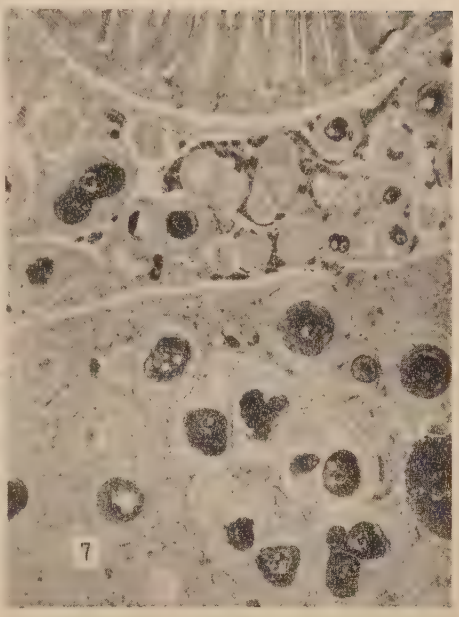
DISCUSSIONE

I principali testi di Ittiopatologia (Plehn, 1924; Davis, 1947, 1953; Schaperclaus, 1954; Reichenbach-Klinke, 1952, 1957; Van Duijn, 1956, ecc.) non fanno menzione di una parassitosi che interessa i pesci simile a quella da me riscontrata. Mi risulta tutavia che Yamaguti (1935) riscontrò nel fegato di *Scomber japonicus* alcune uova misuranti 50-63 × 24-27 microns e rapportabili a quelle della specie *Hepaticola,* ma non fu in grado di descrivere il parassita adulto che le aveva deposte. L'A. seguì la denominazione proposta da Hall, 1916 il quale comprendeva nel genere *Hepaticola* l'unica specie *Hepaticola hepatica,* specie che infesta il fegato dei topi e di altri animali superiori, compreso l'uomo, e che venne descritta per la prima volta da Bancroft nel 1893 sotto il nome di *Trichocephalus hepaticus.*

Nel 1946 Sulman trovò delle uova misuranti 63-64 × 28-30 micr. nel fegato di alcuni pesci catturati nella Dvina occidentale, ma solo nel 1947 fu in grado di ritrovare e descrivere il parassita maturo sessualmente nel fegato di *Eupomotis gibbosus,* di *Acerina cernua* e di *Cobitis taenia* catturati nelle acque del delta del Danubio. L'A. classificò questo verme nel genere *Hepaticola* Hall, 1916 e lo denominò *Hepaticola petruschewskii.*

In seguito Lucki (1955) riscontrò, nel fegato di una tinca (*Tinca tinca*) pescata nel fiume Dyje (Thaya) in Cecoslovacchia, delle uova con tappi polari, ma non ritrovò parassiti interi. In considerazione del fatto che





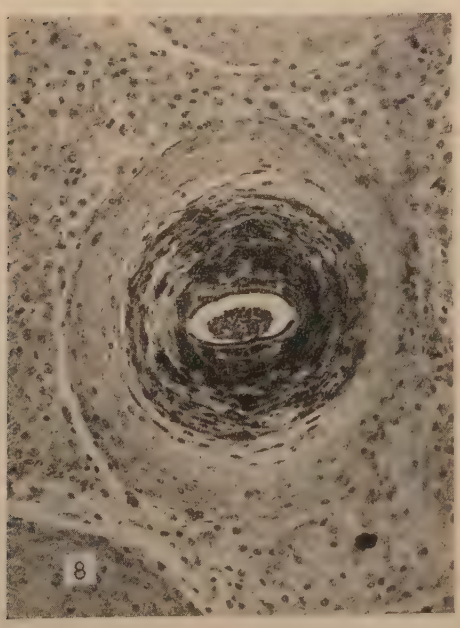
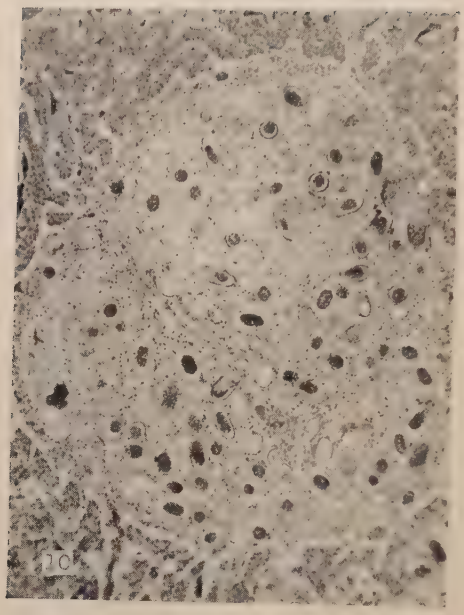


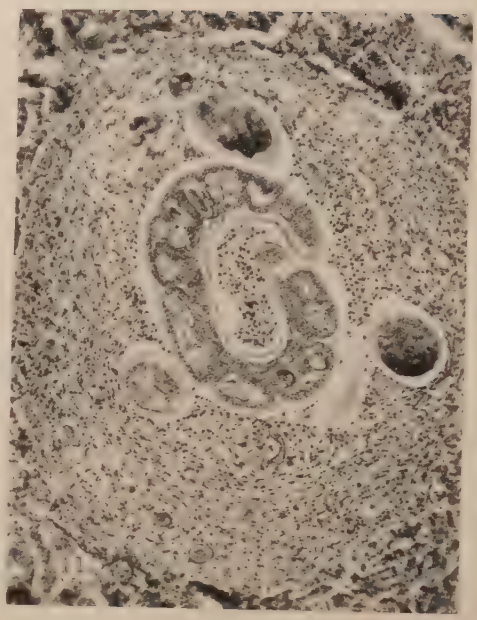
Fig. 6 - Sezione di fegato di *Eupomotis gibbosus* parassitato da *Capillaria eupomotis*. (Susa. Ematossilina-Eosina. × 116).

Fig. 7 - Sezione di fegato e pancreas di *Leuciscus souffia muticellus* parassitato da *Capillaria eupomotis*. (Zenker. Mallory-Azan. × 45).

Fig. 8 - Sezione di fegato di *Leuciscus souffia muticellus* parassitato da *Capillaria eupomotis:* uovo incapsulato. (Zenker. Mallory-Azan. × 326).

Fig. 9 - Sezione di fegato di *Phoxinus phoxinus* parassitato da *Capillaria eupomotis*. (Zenker. Ematossilina-Eosina. × 163).





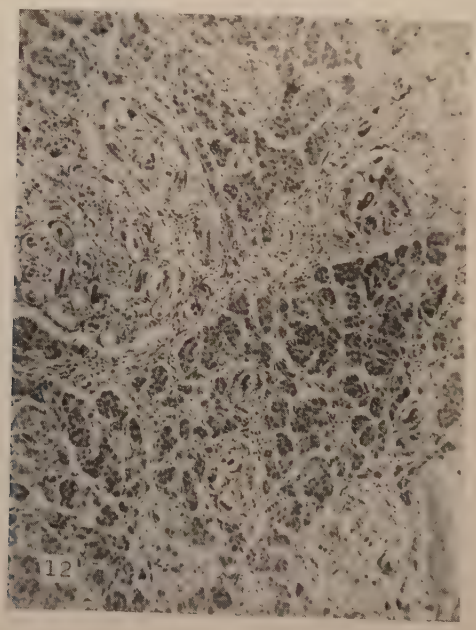


Fig. 10 - Sezione di fegato di *Salmo gairdnerii* parassitato da *Capillaria eupomotis:* nodulo parassitario con ammasso di uova. (Zenker. Mallory-Azan. × 116).

Fig. 11 - Sezione di fegato di *Salmo gairdnerii* parassitato da *Capillaria eupomotis:* nodulo con il parassita. (Zenker. Mallory-Azan. × 160).

Fig. 12 - Sezione di fegato di *Salmo gairdnerii* parassitato da *Capillaria eupomotis:* parassitosi a carattere infiltrativo. (Formolo salato. Ematossilina-Eosina. × 116).

le caratteristiche di tali uova (lunghezza media micr. 54,12 senza tappi polari e 63,14 con tappi polari; larghezza media 25,41, superficie liscia) si identificavano con quelle descritte da Sulman, e per la circostanza che il soggetto infestato proveniva da acque appartenenti al bacino fluviale del Danubio, le considerò come uova di *H. petruschewskii.*

Non sono in grado al momento di riportare le caratteristiche del parassita descritto da Sulman e di paragonarle con quelle da me rilevate. Ma se da una parte sono portato a considerare la identità delle dimensioni delle uova descritte da Sulman e da Luckì con le uova da me ritrovate, ed il fatto che la parassitosi venne anche riscontrata nell'*E. gibbosus,* per cui sarebbe logico avvicinare a questa infestione quella da me descritta, da un altro canto non posso non rilevare alcuni caratteri che la differenziano. Infatti le uova descritte da questi AA. avevano una superficie liscia, mentre dalle mie osservazioni è risultato che tale superficie appare di aspetto striato per lievi ondulazioni (cfr. fig. 3). Inoltre è opportuno mettere in evidenza il fatto che il parassita da me studiato non infesta la tinca e il cobite, per lo meno in base alle ricerche finora svolte, che vivono negli stessi ambienti dove sono state catturate le specie riscontrate infestate. Per di più, tali pesci appartengono ad un bacino fluviale del tutto isolato da quello danubiano.

Tenendo conto di questi fattori e della circostanza che l'*E. gibbosus* risulta quello colpito nella percentuale maggiore e quello in cui le lesioni riscontrate possono far pensare ad un ospite definitivo nel ciclo evolutivo del parassita, propongo, seguendo la moderna classificazione (Baylis, 1931; Neveu-Lemaire, 1936; Lopez-Neyra, 1947; Madsen, 1951; ecc.), che il Nematode da me trovato e studiato venga denominato *Capillaria eupomotis* n.sp.

* * *

Mentre le mie ricerche proseguono per stabilire se altre specie di pesci sono colpite da questa parassitosi, quale sia la sua esatta distribuzione geografica in Italia e per conoscere con esattezza il suo ciclo biologico, ritengo opportuno segnalare tale infestione all'attenzione dei piscicoltori e dei tecnici che si occupano di allevamenti ittici. Sebbene non abbia ancora avuto modo di dimostrare una trasmissione sperimentale della Capillariosi epatica dei pesci selvatici alle trote di allevamento, è logico pensare, che con moltissima probabilità, tale fenomeno sia possibile e che si sia verificato in diverse circostanze. E' ben vero che non ho ancora notato conseguenze gravi nelle trote colpite, paragonabili a quelle provocate da altre parassitosi più note, ma non si può negare che un'infestione massiva da tale Nematode possa provocare effetti nocivi alla

salute dei pesci, tanto più seri se sono già presenti stati morbosi di altra natura.

E' perciò necessario impedire l'introduzione della parassitosi in questione nelle troticulture: per raggiungere tale scopo, almeno negli allevamenti del Piemonte che più da vicino ci interessano, sarà sufficiente cuocere i pesci d'acqua dolce provenienti dal bacino del fiume Po.

ON A LIVER CAPILLARIOSIS OBSERVED IN REARED TROUTS AND IN OTHER TELEOSTS FROM THE WATERS OF THE BASIN OF THE PO IN PIEDMONT, WITH THE DESCRIPTION OF A NEW SPECIES (*CAPILLARIA EUPOMOTIS*)

The A. relates upon a Capillariosis he observed the first time in Italy in the liver of rearing trouts *(Salmo gairdnerii, Salmo trutta)* and of some Teleosts *(Eupomotis gibbosus, Phoxinus phoxinus, Leuciscus souffia muticellus, Leuciscus cephalus cabeda)* from the waters of the basin of the Po in Piedmont. He describes the histopathological lesions occurring in the liver of these parasited fishes; these lesions are of a different degree according to the species. Furthermore the A. describes accurately the parasite isolated complete from the liver of *Eupomotis gibbosus* and *Salmo gairdnerii;* he ascribes it to a new species he names *Capillaria eupomotis.*

Then he suggests that parasitosis is very likely transmitted to the rearing trouts by administration, as raw food, of the parasited wild fishes; therefore he warns fish-culturists from using, even occasionally, fishes from parasited waters.

BIBLIOGRAFIA

BANCROFT, T. L. (1893) - On the whip worm of the rat's liver. *Il. Proc. Roy. Soc. N. S. Wales. Sidney, 27;* 28.

BAYLIS, H. A. (1931) - On the structure and relationship of the nematode *Capillaria (Hepaticola) hepatica* (Bancroft). *Parasitol., 23:* 533.

DAVIS, H. S. (1947) - Care and disease of trout. Res. Rep. 12, Fish a. Wildlife Serv., U. S. Dep. of the Inter.

DAVIS, H. S. (1953) - Culture and disease of game fishes. Univ. of Calif. Press., Berkeley a. Los Angeles.

GHITTINO, P. (1961) - Eziologia, patogenesi e tentativi di trasmissione della « Degenerazione lipoidea epatica » nella trota iridea *(Salmo gairdnerii). Veterinaria Ital., XII,* 3.

HALL, M. C. (1916) - Nematode parasites of mammals of the orders rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. *50,* 258.

LOPEZ-NEYRA, C. R. (1947) - Los *Capillariinae.* Mem. R. Acad. Ciencias, XII.

LUCKI, Z. (1955) - Nález vajícek hlìstice Hepaticola petruschewskii (Sulman, 1948) v játrech lìna z povodí Dyje. *Ceskosl. Paras., II:* 99.

MADSEN, H. (1951) - Notes on the species of *Capillaria* Zeder, 1800 know from gallinaceous birds. *J. Paras., 37:* 257.

NEVEU-LEMAIRE, M. (1936) Traité d'helminthologie médicale et vétérinaire. Vigot Frèr., Paris.

PLEHN, M. (1924) - Praktikum der Fischkrankheiten. Nägele, Stuttgart.

REICHENBACH-KLINKE, H. H. (1952) - Beobachtungen an Fischpathogenen Arten der Nematoden Gattung *Capillaria* Zeder. *Datz,, 3:* 68.

REINCHENBACH-KLINKE, H. H. (1957) - Krankheiten der Aquarienfische. Alfred Kernen Ver., Stuttgart.

SCHAEPERCLAUS, W. (1954) - Fischkrankheiten. Akad. Verl., Berlin 194.

SULMAN, S. S. (1948) - Novyj vid kruglych červej, parazitirujuščij v peceni ryb, *Isvestija vsesojuznovo naucno-isledovatelskovo instituta ozenorvo i recnovo rybnovo chozjajstva, 27:* 235-238.

VAN DUIJN, C. Jnr. (1956) - Disease of Fishes. Water Life, Dorset House, London.

YAMAGUTI (1935) - Citato da Sulmann e da Luckì.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 3 - Settembre 1961

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DEI SIMULIDI ITALIANI. 2. UN NUOVO *PROSIMULIUM: PROSIMULIUM ALBENSE* n. sp. (*DIPTERA, NEMATOCERA*) PROVENIENTE DAL MONTE DELLA MAGNOLA (PROV. DELL'AQUILA (*)

Leo Rivosecchi (**)

Nel corso di uno studio faunistico sui simulidi del bacino idrografico del fiume Liri-Garigliano (***) sono state raccolte alcune pupe fornite di singolari organi respiratori. Questi appaiono fortemente modificati rispetto a quelli noti per le specie dello stesso genere in seguito all'enorme rigonfiamento del tronco comune dei filamenti branchiali. Solo dopo la seconda biforcazione di questa grossa base si osservano dei sottili filamenti respiratori. Da queste pupe sono sfarfallati degli adulti di piccole dimensioni (MM 2,5 mm, FF 2,5-3 mm) che per un complesso di caratteristiche morfologiche si ritengono appartenenti ad una specie sin ora non descritta.

In un precedente lavoro (Rivosecchi, 1961) ho fornito un elenco di 15 specie di Simulidi raccolti nella Provincia di Latina. Successivamente ho esteso le mie ricerche a tutto il bacino idrografico del fiume Liri-Garigliano, del quale fanno parte anche le acque dei monti del Sirente e della Màgnola, in Provincia dell'Aquila (Abruzzo) e qui ho avuto l'opportunità di raccogliere altre specie che non figurano nel precedente elenco relativo alla Provincia di Latina. Tali specie appartengono al genere *Prosimulium*: una è *Prosimulium hirtipes* Fries, segnalata da Corti, 1914 (*Melusina hirtipes*, Fries) e che rappresentava sin ad oggi l'unica specie del genere nota per la fauna italiana; l'altra è quella che considero nuova e che qui descrivo.

(*) Il presente studio è stato eseguito presso il *Centro per la lotta contro gli insetti nocivi.*

(**) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratori di Parassitologia, Roma.*

(***) Nota presentata al 2° Congresso Nazionale di Parassitologia, Roma-L'Aquila 1961.

PROSIMULIUM ALBENSE n. sp. (*)

Maschio

Dimensioni: lunghezza del corpo 2,5 mm, lu. delle ali 3 mm. *Colorazione*: capo e pezzi boccali neri, antenne per 2/3 con peli giorgio-ar-

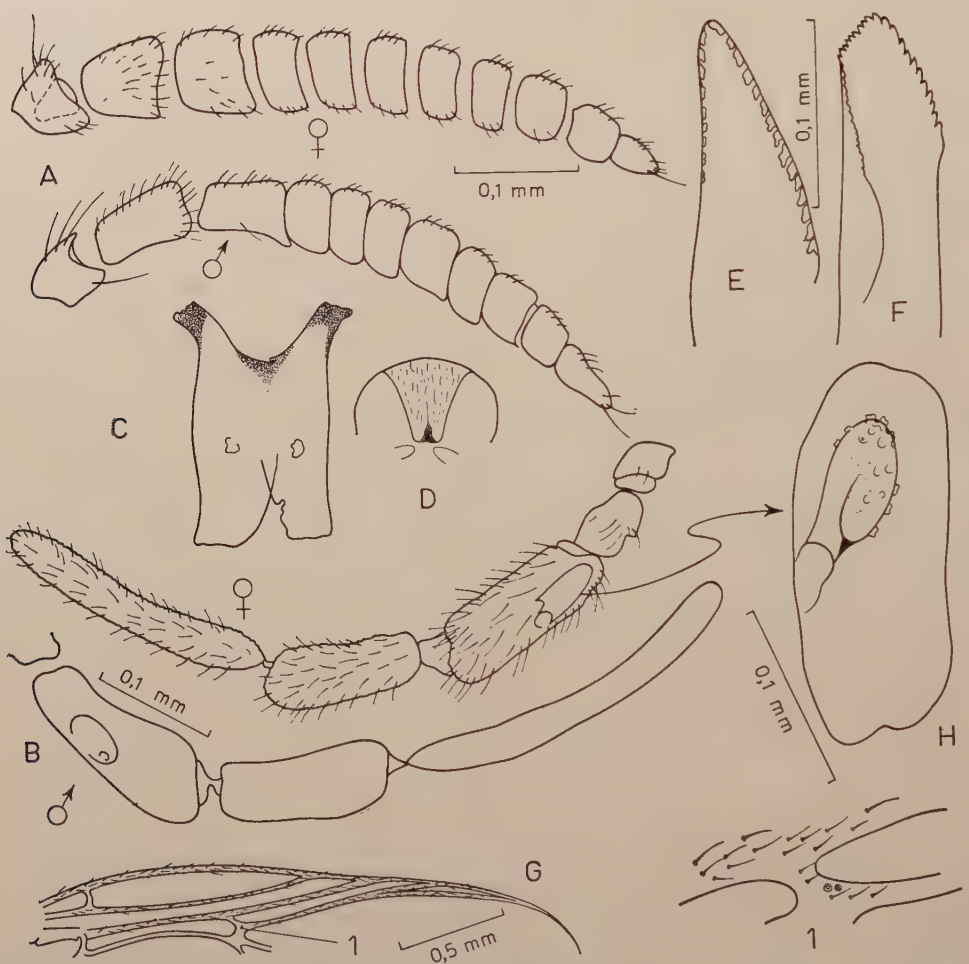


Fig. 1 - A = antenne del maschio e della femmina, B = palpi mascellari del maschio e della femmina, C = faringe, D = fronte della femmina, E = galea mascellare, F = mandibola, G (1) = particolari delle ali, H = cripta sensoriale.

gentei; torace ed addome neri di fondo ma provvisti di peli giallo-dorati, pleure con pruinosità grigiastra che a diversa incidenza di luce può avere

(*) Così denominato perché raccolto in prossimità dell'antica città romana di « Alba Fucentia ». Questa città situata sulle pendici dei monti della Mágnola dominava tutta la zona del lago del Fucino, il quale è stato ora completamente prosciugato. Tutte le acque del suo bacino idrografico fanno quindi parte di quello più ampio del Liri-Garigliano.

riflessi violacei, calittra bruno chiara con orlo esterno nero e una frangia di peli gialli, ali con riflessi rossastri, zampe gialle che si scuriscono alle estremità prossimali e distali delle tibie, tarsi del I e II paio scuri, tarsi del III paio un po' più chiari, peli delle zampe, gialli nelle tibie e nei femori, neri nei tarsi.

Capo (fig. 1): pezzi boccali ben sviluppati e complessivamente più lunghi della carena facciale. Antenne di 11 articoli, lu. II articolo poco meno del doppio della larghezza, rapporto lu.-la. nel III articolo circa 1/½. Palpi mascellari con l'ultimo articolo lungo più del doppio del precedente.

Torace: ali lunghe 3 mm. con peli della venatura costale, subcostale e radiale di un solo tipo. Zampe di forma e dimensioni come alla fig. 2

Addome: terminali nel loro assieme come a fig. 3. Gonostili esternamente molto convessi e internamente con due angoli diedri, sicchè il profilo varia secondo la visuale e può essere triangolare (come a fig. 3 B) o rettangolare con i lati arcuati (come a fig. 3 A). La lu. di ciascun gonostilo è circa una volta e mezzo la la. basale. All'estremità distale i gonostili sono provvisti di 2 spine terminali. Il gonosterno visto in profilo ha un aspetto a « cornamusa ». Vi si può distinguere una porzione fortemente pigmentata lungo il margine convesso ed una porzione « sacciforme »

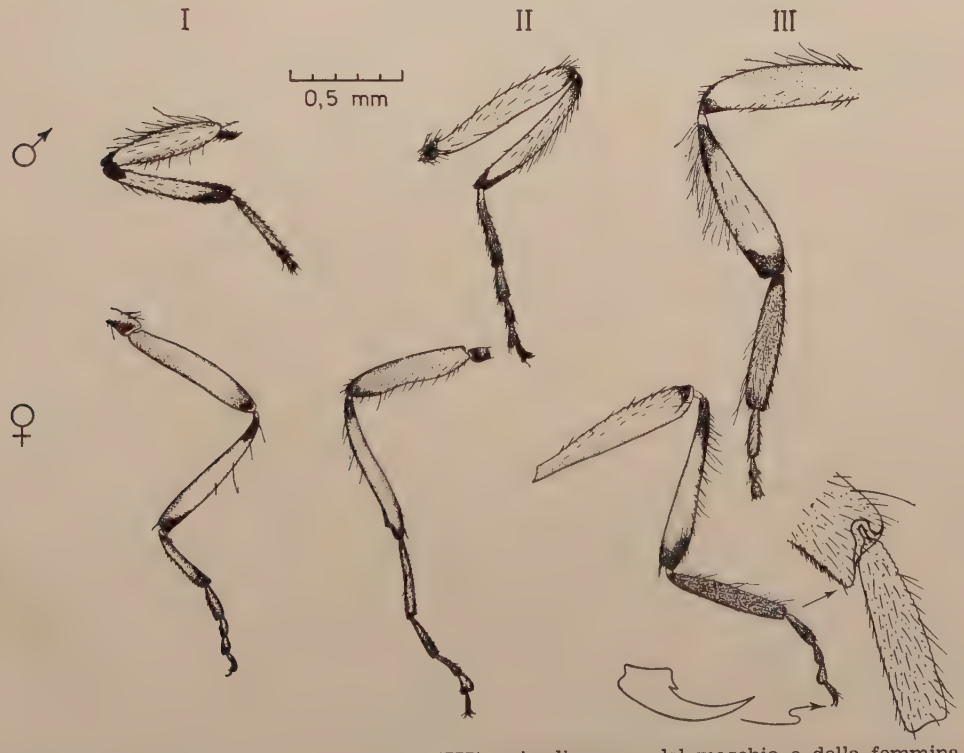


Fig. 2 - Primo (I), secondo (II) e terzo (III) paio di zampe del maschio e della femmina.

di colore più chiaro, provvista di fine peluria. Lungo il margine concavo si osserva una spina nera unciforme. Medialmente il gonosterno presenta una espansione molto debolmente pigmentata, che vista di fronte si presenta come alla fig. 3D. Il gonosterno, non disarticolato dagli altri scleriti dei terminali e osservato nella posizione indicata alla fig. 3A, ha un aspetto a « cestello » ed una la. che è circa il doppio dell'altezza misurata lungo la linea mediana. Lungo questa stessa linea si osserva la porzione sacciforme, che vista di fronte ha un profilo subtriangolare con base con-

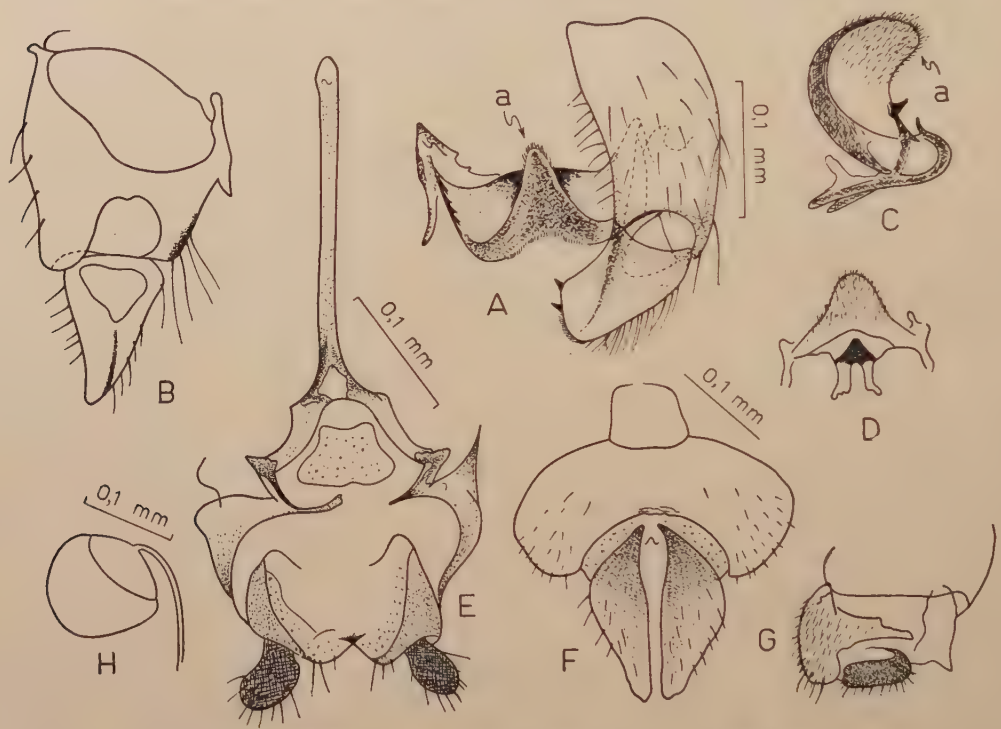


Fig. 3 - A = terminali maschili « in situ », B = gonostilo visto internamente, C = gonosterno visto in profilo, D = gonosterno visto di fronte, E = furca e terminali femminili, F = lamine genitali femminili, G = terminali femminili visti lateralmente, H = spermateca.

cava e un vertice che sporge al disopra del margine del corpo del gonosterno. Questo vertice piuttosto arrotondato e provvisto di peli è stato contrassegnato con la lettera « a » nelle due fig. 3A e 3C, nelle quali il gonosterno è rappresentato rispettivamente di fronte e di profilo.

Femmina

Dimensioni: lu. del corpo 2,5-3 mm, lu. delle ali 3,5-4 mm. *Colorazione*: capo grigio, cangiante secondo la luce dal grigio chiaro al grigio scuro; mesonoto grigio bruno, ricoperto da peli gialli che si estendono anche

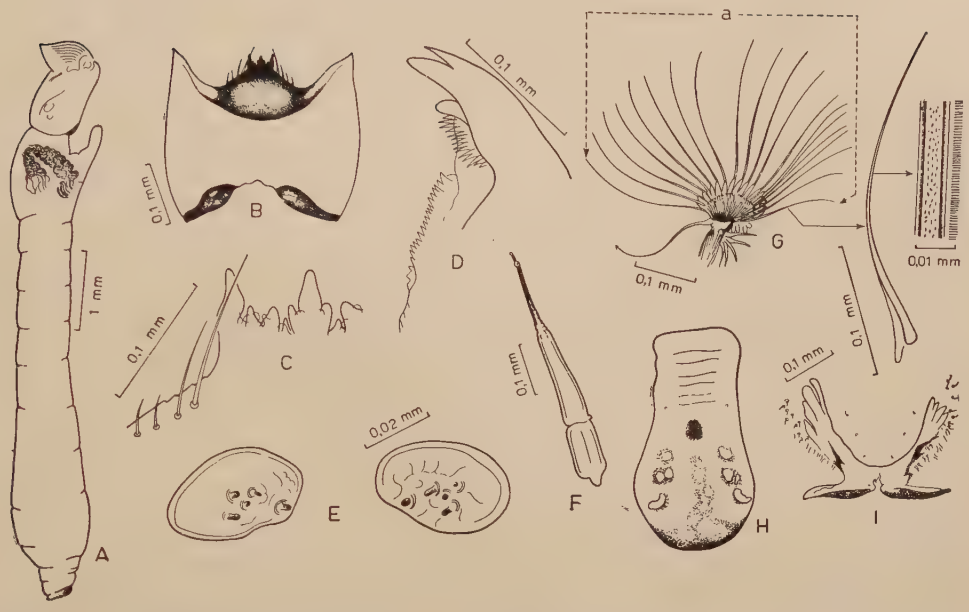


Fig. 4 - A = larva matura, B = capsula cefalica vista ventralmente, C = denti del submento, D = denticolazione mandibolare, E = sensilli del labbro inferiore, F = antenne, G = ventagli premandibolari, H = sclerite mediano-dorsale della capsula cefalica, I = sclerite rettale.

sulla fronte e la faccia; scutello marrone; addome grigio scuro con orli posteriori di ciascun urite grigio-chiari; zampe gialle salvo i ginocchi e le estremità delle tibie; tarsi egualmente scuri nelle 3 paia di zampe; calittre dello stesso colore che nei maschi.

Capo (fig. 1): fronte che si allarga fortemente in senso dorsale, sicché la massima la. è un po' più del doppio della minima la., misurata sopra l'inserzione delle antenne. Altezza della fronte un po' superiore al doppio della minima la.. Antenne di 11 articoli. Apparato boccale di tipo ematofago. Mascelle con 26 denti di cui 17 sul lato esterno e 9 sul lato interno (*), mandibole con 30-35 denti. Palpi mascellari con articolo terminale lungo meno del doppio del precedente. Cripta sensoriale più grande che nel maschio con forma e struttura come a fig. 1 B.

Torace: ali con venature provviste di un unico tipo di peli; sensilli alari in numero di due e piuttosto ravvicinati tra loro. Dimensioni e forma delle zampe come a fig. 2. *Pedisulcus* e *calcipala* assenti. Unghiette terminali con un piccolissimo dentello, visibile solo a forte ingrandimento.

Addome: lamine genitali (fig. 3 F) linguiformi, pigmentate cranialmente, un po' più lunghe di ciascuno dei due rami della furca ed eguali esattamente alla metà della lu. del gambo della furca. I rami della furca

(*) Per questo carattere la specie da me descritta si avvicina a *P. conistilum* Rub.

(fig. 3 E) sono incurvati due volte e sono lunghi tra 1/2 e 1/3 della lunghezza del gambo. Cerci fortemente pigmentati, almeno due volte e mezzo più larghi che lunghi (fig. 3 G). Spermateca come alla fig. 3 H.

LARVA (fig. 4)

Piccole dimensioni: 6-7 mm in alcool, 7,5-8 mm in lattofenolo. Colore grigio-biancastro del corpo, sul quale spiccano grosse branchie nere nelle larve mature. Il capo presenta nello sclerite mediano (fig. 4 H) una macchia scura centrale, cui segue, lungo la linea mediana, una ombreggiatura che si espande lungo il margine posteriore; lateralmente 3 paia di impronte muscolari, di cui quelle mediane sono doppie e quelle posteriori sono assai più marcate di tutte le altre.

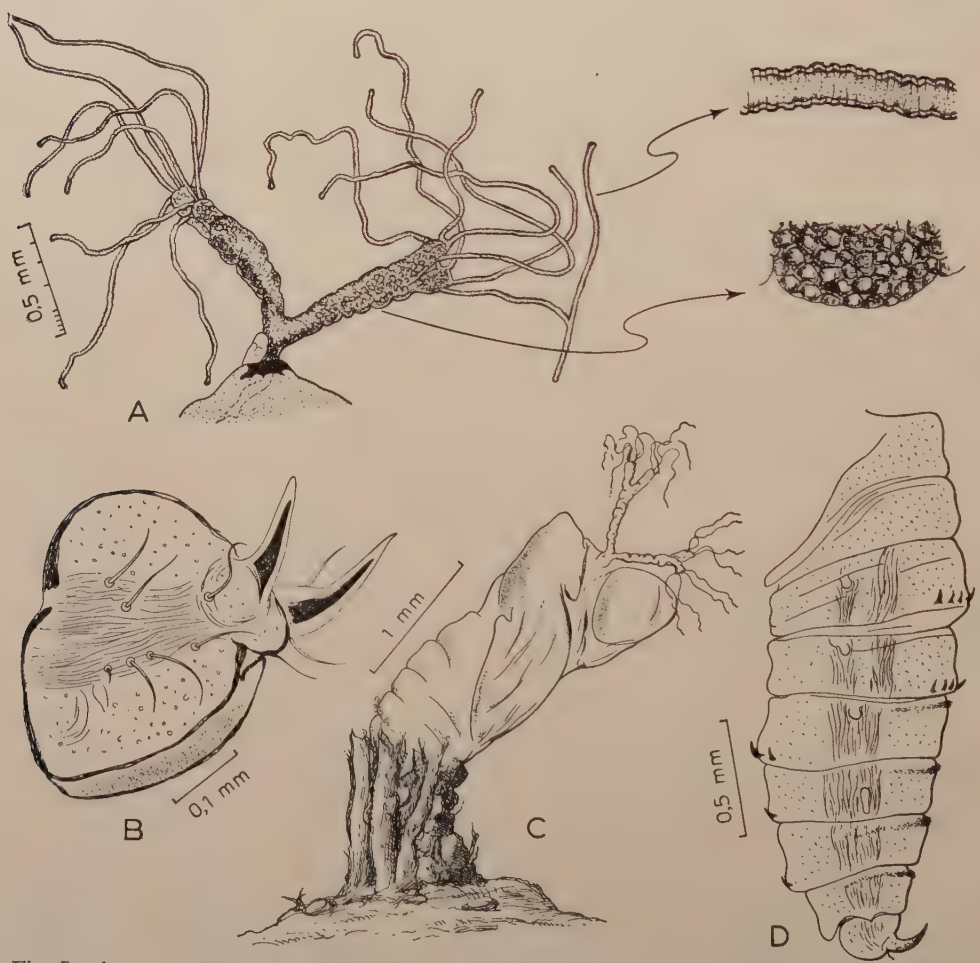


Fig. 5 - A = organi respiratori pupali, B = estremità dell'addome della pupa, C = bozzolo, D = addome della pupa visto lateralmente.

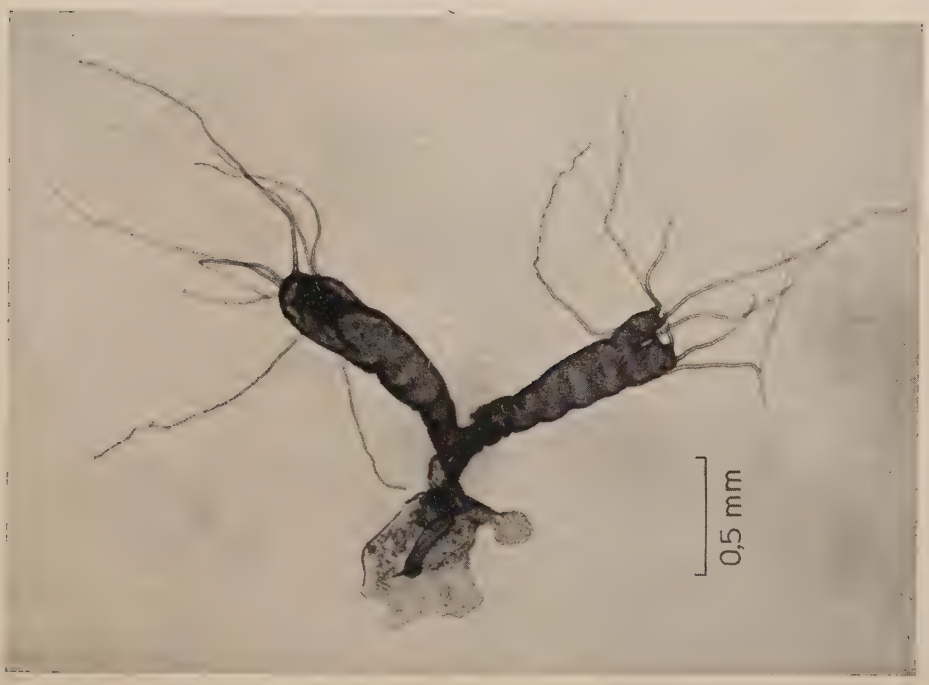


Fig. 6 - Organi respiratori pupali.

Dente mediano del submento (fig. 4 C) provvisto di tre punte, di cui quella mediana non raggiunge la linea che unisce le punte dei denti laterali. Terzo e IV articolo antennale sommati sono uguali alla metà del I e II fusi. Premandibole ventagliformi con circa 20 rami principali (tipo « a » della fig. 4 G). Le 5 larve esaminate ne avevano rispettivamente: 18-20-20-21-19. Tra i rami del tipo a, quello ingrandito nella fig. 4 G, misura verso la metà, 10 μ; nello stesso punto la pettinazione dei rami è semplice (particolare fig. 4 G). Denticolazione mandibolare e sensilli del labbro inferiore come alle figg. 4 D e 4 E. Margine posteriore della capsula cefalica assai poco incavato. Sclerite rettale con rami dorsali distalmente suddivisi e circondati da peli spiniformi, disposti come alla fig. 4 I.

PUPA (fig. 5)

Misura da 3 a 4 mm non calcolando gli organi respiratori (1,5-2 mm). I filamenti branchiali (fig. 5 A e fig. 6) sono 16 per ciascun lato del corpo e suddivisi in 4 gruppi di 4 filamenti ciascuno. La base di impianto dei filamenti sul torace è notevolmente rigonfia e suddivisa dicotomicamente due volte consecutive. La prima biforcazione produce due grossi rami cortissimi rami, egualmente dilatati, dalle cui estremità fuoriescono dei sottilissimi filamenti. Ciascun filamento ha spessore costante per tutta la

sua lunghezza e margini fortemente ondulati. Il punto di impianto di questi filamenti non è sempre costante e può essere situato anche un po' prima dell'estremità dei rami rigonfi, mai prima della II biforcazione. Qualche filamento si può distaccare completamente e saldare su un filamento vicino formando una specie di T, come si osserva alle figg. 5 A e 6. Le pupe non sono mai ricoperte dal bozzolo sul torace, anzi il più delle volte non si distingue neppure un vero e proprio bozzolo, ma solo dei sassolini o piccoli frammenti vegetali (fig. 5 C) tenuti insieme da pochi fili adesivi, ai quali la pupa aderisce mediante i robusti uncini terminai (fig. 5 B).

Provenienza

E' per tutti gli esemplari un medesimo ruscello. Questo, a carattere del tutto temporaneo, si trovava sulle pendici del monte della Màgnola tra le frazioni di « S. Jona » e « le Forme » (Avezzano), alla quota di circa 1650 m. sul livello del mare. Larve e pupe erano tutte raggruppate in una spaccatura di un blocco roccioso, in cui filtrava acqua prodotta dallo scioglimento della neve. La raccolta è avvenuta il 19 aprile 1961.

Esemplari su cui è basata la descrizione

Adulti: 1 M e 4 FF spillati, 1 M e 1 F in clorallattofenolo. *Larve*: 5 in lattofenolo. *Pupe*: 8 exuvie, e 2 pupe, di cui una contenente una femmina già formata.

* * *

Apparentemente gli organi respiratori pupali sembrano molto diversi da quelli di altre specie dello stesso genere; invece sia la struttura dei filamenti, sia il loro numero (16), non si discostano da quelli di forme già note; solo il rigonfiamento basale di questi organi respiratori e il modo di suddividersi rappresenta qualche cosa di nuovo nel genere *Prosimulium*. Le larve per la dentellatura del submento si avvicinano alle specie del gruppo « *hirtipes* », mentre per altri caratteri (suddivisione terminale delle braccia dello sclerite rettale e numero dei rami del ventaglio premandibolare) si avvicinano a *P. pronevitshae* Rub. e *P. nigripes* Abr. Anche le femmine per un complesso di caratteri (piccole dimensioni, lamelle genitali lunghe metà del gambo della furca, fronte piuttosto allargata dorsalmente, cerci assai più larghi che alti) sembra che si avvicinino ad un gruppo di specie (*P. petrosum* Rub., *P. rachiliense* Djal., *P. pronevitshae*

Rub.) provvisto di 16 ramificazioni pupali è tipico dell'Europa centrale e del Caucaso. Tuttavia il gonosterno del maschio non presenta una particolare somiglianza con nessuna delle suddette specie.

Nella zona in cui ho trovato la specie qui descritta, sono molto frequenti le larve e le pupe del comune *P. hirtipes* Fries. Pupe e larve si trovano in grossi ammassi associate a *Odagmia variegata* Meig. in quei ruscelli e torrenti che nel periodo dello scioglimento delle nevi defluiscono da tutta la catena montuosa del Sirente verso l'altopiano del Fucino. Queste pupe hanno 16 filamenti respiratori, ramificati nel modo che è comune ad ogni specie del genere *Prosimulium*. Gli adulti che ne sfarfallano sono grossi esemplari (4-5 mm), facilmente distinguibili da quelli della specie descritta, oltre che per le dimensioni, per la colorazione più scura del corpo e delle zampe e per la forma del gonosterno dei maschi.

A CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF ITALIAN BLACK FLIES. 2. A NEW *PROSIMULIUM: PROSIMULIUM ALBENSE* n. sp. *(DIPTERA, NEMATOCERA)* FROM THE MOUNTAIN OF MAGNOLA (ABRUZZO, ITALY)

Male — Length: body 2,5 mm; wing 3 mm. General colour: black with long gold-yellow hairs, grey-brown calypter with black fringe and yellow hairs. Legs yellow, basal tarsus I and II black, basal-tarsus III yellovish. Mouth parts well developed and longer than face. Antenna as in fig. I A, legs as in fig. 2 (I M, II MM, III M). Gonostylus as in figg. 3 A, 3 B; gonosternum as in figg. 3 A, 3 C, 3 D.

Female — Lenghth: body 2,5-3 mm; wing 3-3,5 mm. General colour: grey-brown with yellow hairs less long that in the male. Calypter with the same colour that in the male, legs yellow, all tarsus black. Frons wide, divergent above, twice as wide as at narrowest point. Antenna and palpus as in fig. 1 A and 1 B. Mouth parts of ematophagous type. Mandible with 30-35 serration, maxilla with 17 external and 9 internal teeth. Legs as in fig. 2 (I F, II F, III F), claws with very little teeth. Terminalia as in figg. 3 E-F-G.

Larva — mature specimens 6-7 mm. Body colour white-grey. Epicranial plate of head capsule as in fig. 4 H. Submentum as in fig. 4 B. Cefalic fans in five specimens with 18-20-20-21-19 rays of type « a » (fig. 4 G); one of theese, was 10 μ width and combed as in the same fig. 4 G. Teeth of mandible as in fig. 4 D. Sense organs of labium as in fig. 4 E. Head capsul ventrally few hollowed (fig. 4 B).

Pupa (fig. 5) — Lenght 3-4 mm. Respiratory organs 1,5-2 mm; 16 branching filaments divided in 4 groups, each of 4 filaments. Base of respiratory organs swollen and twice dicotomically divided. Cocon very little (fig. 5 C), never extended on thorax and limited to the base of abdomen.

Collecting place: a very little brook on mountains of « Mágnola » (1650 meters above sea level) - 19 April 1961.

Observed specimen for description: Adults: 2 MM, 4 FF, larvae 5 ex., pupae 10 ex..

In the environ of Fucino (plain) is possible in April-May to find specimens of *Prosimulium hirtipes* Fries. These specimens for a complex of morphological characteristics (body lenght = 4-5 mm in adult stage, pupae with branching filaments non swollen, gonosternum exactly as that of *Prosimulium hirtipes* Fries) are easy separable from specimens here described.

BIBLIOGRAFIA

CORTI E. (1914) - Le simulie italiane. Nota I - *Atti Soc. It. Sc. Nat. Milano 53,* 192-206.

PETERSON B. V. (1958) - A redescription of the female and first description of the male, pupa and larva of *P. flaviantennus* (S. and K.) with notes on the biology and distribution, *Canadian entomologist, 90,* 496-473.

RIVOSECCHI L. (1961) - Contributo alla conoscenza dei simulidi italiani. I. Reperti in provincia di Latina. *Riv. di Parass., 22,* 27-54.

RUBZOV J. A. (1956) - Moski (Simuliidae), Fauna dell'U.R.S.S. VI (6) - *Mosca.*

RUBZOV J. A. (1960) 14 - Simulidae (Melusinidae) S. 97-160 in Lindner « Die Fliegen der Palearktischen Region » 211-*Stuttgart.*

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 3 - Settembre 1961

ANOPHELES DU CONGO (EX-BELGE). 4. QUELQUES ESPECES FORESTIERES.

Référence-Récoltes-Répartition et importance médicale actuelle

M. Lips, A. H. (*)

Cette 4me Note de révision des Anophèles du Congo (ex-Belge), concerne quelques Anophèles forestiers: *cinctus, hancocki, hargreavesi, jebudensis, keniensis, obscurus* et *vinckei.*

Dans l'état actuel de nos connaissances, ces 7 Anophèles ne jouent aucun rôle dans la transmission de la Malaria humaine au Congo.

L'attention est attirée sur la présence de l'*A.hancocki,* vecteur secondaire, et *A. hargreavesi,* vecteur principal, en d'autre contrées.

Le « milieu forestier » et une partie de sa faune Anophélienne est rencontrée dans le Sud du Congo, ou existe une saison sèche prolongée. Le facteur « chutes de pluies » parait donc ici négligeable, mais le facteur « humidité costante » (et température d'une certaine stabilité) de certains « microclimats » doit être pris en considération.

Preliminaires

Edward (22) considère les Anophèles *cinctus, hancocki, hargreavesi* et *obscurus,* comme des espèces « forestières ». Nous y avons ajouté les Anophèles *jebudensis, keniensis* et *vinckei,* qui nous paraissent pouvoir figurer dans cette catégorie, du moins en ce qui concerne le Congo (ex-Belge).

« Fôrestier », est un terme qui s'applique à « forêt ». Mais nous avons des Anophèles qui peuvent être considérés comme « forestiers », tout en ne fréquentant pas la « forêt ». Tel est le cas des Anophèles qui vivent dans un « milieu forestier », très éloigné parfois de la forêt proprement dite. C'est ainsi qu'au Katanga, très éloigné de la grande forêt equatoriale de la cuvette centrale, il n'existe plus de forêts proprement dites, mais seulement des « vestiges » : comme les « muhulu » et les galeries forestières qui longent certaines rivières et fleuves. Dans ces vestiges de forêt, nous recontrons un microclimat très différent du milieu environnant, et la faune Culicidienne s'y présente comme dans un état « concentré », ce qui facilite grandement les études et les recherches.

(*) Attaché au S.E.C.L.A., ou Service d'Etude et Coordination de la Lutte Antipaludique, Léopoldville.

Le facteur « chute de pluies » auquel de très nombreux auters attachent un importance « capitale », nous parait dans ce cas, « négligeable ». Ce qui importe à la faune qui fréquente le milieu forestier ce n'est pas les chutes de pluies, mais une *humidité constante*: ce qui n'est pas la même chose. A l'équateur, en pleine forêt, les pluies sont constantes pendant toute l'année, et l'humidité constante est ainsi assurée. Au Katanga, d'autre part, nous assistons à une absence de pluie pendant 6 mois de l'année (saison sèche). L'humidité constante y est assurée grâce aux *sources* nombreuses qui alimentent les rivières des galeries. La température dans les galeries, est aussi relativement stable.

Quand nous avons parlé des Anophèles des galeries forestières (*A. berghei, A. concolor, A. dureni, A. implexus, A. millecampsi* et *A. mortiauxi*) il s'agissait donc aussi d'Anophèles « forestiers ».

L'*A. vanthieli,* dont nous avons parlé dans notre Note précédente peut aussi figurer parmi les Anophèles forestiers.

8) *CINCTUS* Newstead & Carter 1910

Quelques références.	Références Auteurs
1910 — Newstead & Carter - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 4:* 381 *(cincta)*	(177)
1927 — Evans - *Liverp. Sch. Trop. Med. Mem., 3:* 46 *(cinctus)* . .	(23)
1932 — Evans - *Ann. Trop Med. Parasitol., 26:* 100	(158)
1932 — Barber - Cité dans Evans 1938: 129, pour Liberia	(147)
1936 — Collado - *Eos, 2:* 311	(150)
1938 — Evans - Mos. Eth. Reg., II: 126	(26)
1941 — Edwards - Mos. Eth. Reg., III: 468	(22)
1944 — Mattingly - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 38:* 189	(47)
* 1946 — Janssens - Cité dans De Meillon 1947 pour Kilo-Moto: 63 .	(171)
1947 — De Meillon - Anoph. Eth. Geogr. Reg., 63	(14)
* 1953 — Bouillon - *Rev. Zool, Bot. Afr., 47:* 48	(72bis)
1955 — Adam. - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 30:* 389-394	(116)
* 1955 — IRSAC - Rapport annuel 1955	(168)
1956 — Peters - *Bull Ent. Res., 47:* 525-551	(177tris)
* 1956 — Vincke & Laarman - *Fol. Sc. Afr. Centr., 2:* 14	(140)
1956 — Hamon, Adam & Grjebine - *Bull. OMS, 15:* 549-592 . . .	(34)
* 1958 — Jacobs - Rapports inédits - Ubangi Gemena	(169)
1958 — Lacan - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 23:* 150-170	(172bis)

Au Congo (ex-Belge) - Récoltes - Observations

Les larves et les nymphes des Anophèles *cinctus* et *vinckei* sont inséparables. Les observations faites sur des larves ou des nymphes concernent, par conséquent, le « groupe » *cinctus-vinckei.* Il convient de s'en souvenir lorsqu'on s'occupe de la distribution de chacune de ces espèces.

1946. — La première récolte au Congo (ex-Belge) parait être celle du Docteur Janssens, à Kilo-Moto, en Province Orientale. Elle est signalée par De Meillon (1947: 63-64) pour larves et adultes.

(*) Les références avec * se rapportent au Congo (ex-Belge).

1951-52. — Le Rév. Père Bouillon signale quelques récoltes au Kasai, à Kalenda (23° 30' E et 7° 00' S), de juin 1951 à avril 1952. Altitude 900 m. Cette région est située dans la savane Sud, climat Aw. de Köppen. La saison sèche s'y situe approximativement entre le 1r mai et le 1r septembre (5 mois).

Cette récolte semble devoir être confirmée (par élevage individuel).

1955. — L'I.R.S.A.C., ou l'Institut de Recherches Scientifique en Afrique Centrale possèdait une station de recherches, en zône forestière à Irangi (Kivu). Vincke & Laarman y signalent la récolte de larves d'*A. cinctus* dont ils ont obtenu des adultes par élevages individuels. Ils déclarent qu'aucun *A. cinctus* n'a été trouvé piquant l'homme, ni trouvé dans des abris naturels, ni dans les maisons.

1958. — Jacobs, dans un rapport inédit de la région de l'Ubangi, signale près de Gemena, la récolte de larves appartenant au groupe *cinctus-vinckei*. Cette région est située à la limite Nord de la grande forêt équatoriale de la cuvette centrale. Il s'agit donc d'une zône de transition entre la forêt et la savane (climat type Am. de Köppen).

Remarques.

Cet Anophèle n'est pas fréquent dans les captures ordinaires. Son véritable refuge de digestion n'a pas encore été découvert, semble-t-il. Les facteurs qui conditionnent son gîte larvaire optimum n'ont pas encore été signalés. Les observations sur son comportement se réduisent à très peu de choses. Dans l'état actuel de nos connaissances, cet Anophèle ne paraît donc jouer aucun rôle dans la transmission du Paludisme humain.

Distribution hors Congo (ex-Belge).

L'*A. cinctus* a été signalé dans le pays des Ashanti, au Caméroun, en Côte d'Or, à Fernando Pô, en Haute-Volta, au Moyen-Congo, en Nigérie, en Oubangui et au Tchad.

20) *HANCOCKI* Edwards 1929

Quelques références.	Références Auteurs
1926 — Evans - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 20:* 97 *(theileri)* . . .	(155)
1926 — Blacklock & Evans - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 20:* 59-84 .	(148)
1929 — Edwards - *Bull. Ent. Res., 20:* 32 *(theileri,* var. *hancocki)*	(154)
1929 — James - Crown Agents for the Colony, London	(170)
1930 — Hancock - *Bull. Soc. R. Ent. d'Egypte:* 38-56	(32)
1931 — De Meillon - *Publ. S. Afr. Inst. Med. Res., 4:* 275-375 . .	(6)
1931 — Christophers & Puri - *Ind. Jl. Med. Res., 18:* 1138	(149)
1932 — Gordon, Hicks, Davey & Watson - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 26:* 273	(165)
1932 — Barber, Rice & Brown - *Americ Jl. Hyg., 15:* 601	(146)
1932 — Gibbins - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 26:* 239	(80)

1933 — Gibbins - *Bull. Ent. Res., 24:* 257	(81)	
1933 — Gibbins - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 27:* 15		(164)
1934 — Evans - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 28:* 552 *(A.hancocki)*	(25)	
1937 — Zumpt - *Tropenflanzer, 40:* 366		(185)
* 1938 — Schwetz - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 18:* 89-112		(185)
1938 — Evans - Mosq. Eth. Reg. - II: 222	(26)	
* 1938 — Duren - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 18:* 551-580	(13)	
1941 — Edwards - Mosq. Eth. Reg. - III: 468	(22)	
1944 — Mattingly - *Ann. Trop. Méd. Parasitol., 38:* 189	(47)	
* 1946 — Vincke - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop, 26:* 385	(64)	
1947 — De Meillon - Anoph. Eth. Geogr. Reg.: 137	(14)	
1947 — Wilson - *E. Afr. Med. Jl., 24:* 171		(184)
1951 — De Meillon - *Bull. OMS., 4:* 419-441	(15)	
1951 — Hollstein - *Bull. OMS., 4:* 463	(84)	
* 1956 — Adam, Hamon, Richenbach & Lips - *Bull. Soc. Path Exot., 49:* 747-758		(143)
1956 — Hamon, Adam & Grjebine - *Bull. OMS., 15:* 549-592	(34)	
1956 — Lewis - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 50:* 299		(172ter)
1956 — Peters - *Bull. Ent. Res., 47:* 525-551		(177ter)
1958 — Fox - *Americ. Jl. Trop. Med. Hyg., 7:* 215-220		(161)
1958 — Lacan - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 23:* 160		(172bis)

Au Congo (ex-Belge) - Récoltes - Observations.

1936. — Schwetz récolte des adultes dans la forêt du Mayumbe, à Tshela, et à Lampa (à Km. au Nord de Tshela). Il signale aussi des récoltes d'adults hors forêt, à Thysville. Cette localité est située dans la savane, au Sud-Ouest de la grande forêt du Congo. Altitude: 780 m. Le même auteur signale encore des récoltes d'adultes près des rives de la rivière Kwango. Cette désignation est assez vague et difficile à situer sur carte. Nous choisissons arbitrairement la localité de Popokabaka, située près de la rivière Kwango. Schwetz a d'ailleurs fait plusieures récoltes de moustiques dans les environs de Popokabaka vers cette époque. Comme Thysville, les rives du Kwango sont situées en savanes. Il est à remarquer que les galeries forestières qui logent la plupart des rivières au Kwango, sont parfois assez épaisses.

1937. — Duren signale l'avoir récolté au Kasai, à Kabinda et à Tshikapa. Ces localités sont déjà très éloignées de la forêt équatoriale et situées dans la savane au Sud de la fôret centrale. Les galeries forestières y sont moins épaisses que celles du Nord Kwango et la saison sèche y est encore plus marquée que près de Popokabaka. Altitude de moins de 1.000 m.

1943-1945. — Vincke signale la capture de 6 larves sur un total de 29.124 larves d'Anophèles, à Elisabethville. La découverte de l'*A. hancocki*, dans une région si différente et si éloignée de la grande fôret doit être soulignée (*).

(*) Mattingly dans une étude très fouillée sur les *Aëdes Stégomyia* (Bull. Brit. Mus. - Nat. Hist., 2, N. 15) relate plusieurs cas de moustiques trouvés très loin de la *limite normale des chutes de pluies*. Il cite l'*Aëdes africanus* récolté à Taveta ed l'*Aëdes dendrophilus* trouvé dans la galerie forestière de la rivière Kisanga, près d'Elisabethville.

1947. — De Meillon signale des récoltes faites à Watsa et à Léopoldville, sans indication de l'année de récolte ni du nom du récolteur.

Remarques.

L'*A. hancocki* est considéré comme vecteur secondaire de la Malaria humaine. Au Sierra Leone il se comporte comme un anthropophile-exophile. En Uganda et au Libéria, il est considéré comme anthropophile et nettement endophile. De Meillon (15) signale les examens des glandes salivaires (Gibbins en Uganda):

900 glandes examinées dont 2,7% infectées.

Holstein en Haute Volta et en Côte d'Ivoire signale:

62 glandes examinées dont 3,2% infectées (2 glandes positives).

Au Congo (ex-Belge), nous n'avons que quelques rares indications de la répartition et son véritable refuge de digestion reste à découvrir. Dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons aucunement lui attribuer un rôle quelconque dans la transmission de la Malaria humaine. Etant donné qu'il est considéré comme vecteur secondaire du Paludisme dans d'autres contrées, il convient de le rechercher systématiquement et d'observer son comportement.

D'après l'étude de Adam, Hamon, Richenbach & Lips (143) certaines déterminations de l'*A. hancocki* mériteraient confirmation. En effet, ces auteurs distinguent actuellement:

hancocki Edwards 1929
hancocki var. *brohieri* Edwards 1929
hancocki var. *masseguini* Hamon 1954
hancocki var. *seydeli* Edwards 1920

et déclarent que l'*A. brohieri,* l'*A. seydeli,* et l'*A. masseguini* ont des larves très proches de celles de l'*A. hancocki* dont elles ne different que par quelques détails de morphologie.

Distribution hors Congo (ex-Belge).

On a signalé l'*A. hancocki* en Afrique Equatoriale Française, au Caméroun, à la Côte d'Ivoire, à la Côte d'Or, en Haute-Volta, au Libéria, à Madagascar, au Nigéria et en Uganda.

21) *HARGREAVESI* Evans 1927

Quelques références.	Références Auteurs
1927 — Evans - *Liverp. Sch. Trop. Med. Mem., 3:* 40 (var. de *marshalli)*	(23)
• 1929 — Schwetz - Dans Evans 1938	(26)
1929 — Evans - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 23:* 416-425	(156)
1931 — Evans - *Ann. Trop. Parasitol., 25:* 131 (*A.hargreavesi*)	(157)
1931 — Barber & Olinger - *Ann Trop. Med. Parasitol., 25:* 461-501	(145)

1932 — Anderson - Cité dans Evans 1938: 203 . . . . . (144)
1933 — Kerr - *Bull. Ent. Res., 24:* 493-510 . . . . . (172)
1938 — Evans - Mosq. Eth. Reg. : II: 199 . . . . . (26)
* 1938 — Duren - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 18:* 557 . . . . . (18)
1941 — Edwards - Mosq. Eth. Reg. - III: 468 . . . . . (22)
1944 — Mattingly - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 38:* 189 . . . . . (47)
* 1945-56 — Lips - Rapports inédits - Elisabethville . . . . . (173)
1947 — De Meillon - Anoph. Eth. Geogr. Reg.: 133 . . . . . (14)
* 1948 — Fain & Henrard - *Ann. Soc. Belge Med. Trop., 28:* 7-20 . (160)
1951 — De Meillon - *Bull. OMS., 4:* 419-441 . . . . . (15)
1956 — Adam & Hamon - *Bull. Soc. Path. Exot., 49:* 71 . . . . (142)
1956 — Adam & Mattigly - *Bull. Soc. Path. Exot., 49:* 734-747 . . (117)
1956 — Hamon, Adam & Grjebine - *Bull. OMS., 15:* 549-592 . . . (34)
1956 — Peters - *Bull. Ent. Res., 47:* 525-551 . . . . . (177ter)
* 1958 — Jacobs - Rapports inédits de Gemena et Libenge (Ubangi) . (169)
1958 — Lacan - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 23:* 160 . . . . . (172bis)

Au Congo (ex-Belge) - Récoltes - Observations.

1929. — Selon Evans (156) et Duren (18), Schwetz a obtenu des adultes par élevages de larves trouvées dans les hautes herbes au bord du fleuve à Stanleyville.

1945-56. — Lips a récolté quelques rares femelles dans la galerie de la rivière Kisanga à Elisabethville.

1948. — Fain et Henrard signalent la capture de 1 adulte à Edudu et de 3 adultes à Mekwo.

1958. — Jacobs, dans plusieurs rapports inédits sur l'Ubangi, le signale à Gemena et à Libenge (larves).

Remarques.

L'*A. hargreavesi* est considéré, dans certaines contrées, comme *vecteur* de la Malaria humaine. Son importance près de Lagos (Mattingly 1944) peut même dépasser celle de l'*A. gambiae*. Barber et Olinger paraissent être les premiers a avoir attiré l'attention sur cet Anophèle dangereux (Lagos-Nigeria-1931). Les adultes sont communs dan les maisons. Une infection expérimentale a été obtenue de l'ordre de 5,4% sur 92 dissections (De Meillon 1951: 431) dans le Sud du Nigéria. Selon Kerr (172) dans la même contrée, l'*A. hargreavesi* pique à l'extérieur des maisons, principalement vers minuit et plus tard. Selon Mattingly (47) sa distribution saisonnière uniforme et sa plus grande abondance, le désignent comme le vecteur le plus important dans cette contrée (Lagos).

Au Congo (ex-Belge), on ne lui accorde que peu d'attention, étant donné qu'il parait peu fréquent. Nous pensons qu'il est resté peu fréquent dans les captures, parcequ'il a été peu recherché. Il serait intéressant de faire des recherches particulières afin de pouvoir déterminer, aussi exactement que possible, son comportement et son rôle éventuel dans la transmission du Paludisme humain. Dans l'état actuel de nos connaissance,

qui sont minimes, nous ne pouvons lui attribuer un rôle de vecteur humains. Nous le classons donc parmi les Anophèles du Congo (ex-Belge) comme « sans importance » (du moins actuellement).

Distribution hors Congo (ex-Belge).

Cet Anophèle a été signalé en Angola, au Caméroun, en Côte d'Or, au Gabon, au Liberia, au Moyen Congo, en Oubangui-Chari et en Sierra Leone.

22 bis) *JEBUDIENSIS* Froud 1944

Quelques références.	Références Auteurs
1944 — Froud - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 38:* 73	(162)
1947 — Mattingly - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 44:* 239-252 . .	(175)
1947 — De Meillon - Anoph. Eth. Geogr. Reg.: 68	(14)
1956 — Adam & Hamon - *Bull. Soc. Path. Exot., 49:* 71-76	(142)
1956 — Hamon, Adam & Grjebine - *Bull. OMS., 15:* 549-592 . . .	(34)
* 1956 — Vincke & Laarman - *Fol. Sc. Afr. Centr., 2:* 14	(140)
1957 — Adam - *Bull. Soc. Path. Exot., 50:* 671-675	(141)
1958 — Lacan - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 23:* 150-170	(172bis)

Au Congo (ex-Belge) - Récoltes - Observations.

1955. — La seule récolte au Congo (ex-Belge), dont nous avons connaissance est celle signalée par Vincke et Laarman, à Irangi (Kivu-Forêt): 2 larves au bord d'un affluent de la rivière Luhoho (mai-avril 1955).

Remarques.

Adam & Hamon (142) signalent la capture de 2 femelles dans le gîte de repos de l'*A. rageaui,* qui, comme on le sait, est le vecteur d'un plasmodium de porc-épic. Au Congo (ex-Belge), un Anophèle très proche (si pas identique) l'*A. vanthieli* Laarman 1959, a été décrit des anfractuosités rocheuses de la forêt à Irangi. Or c'est à cet endroit que Vincke et Laarman signalent la récolte de l'*A. jebudensis.* Il est donc probable que ce dernier pourra être trouvé à l'état adulte, dans ou près du gîte de repos des *A. vanthieli.* Il serait intéressant de connaitre l'origine des repas sanguins de l'*A. jebudensis,* et d'examiner ensuite le sang de ces animaux sur lesquels ils se nourrissent.

Nous classons cet Anophèle dans la catégorie des « sans importance ». Il est évident qu'aucun rôle dans la transmission de la Malaria humaine ne peut lui être attribué, lorsqu'on ne dispose en tout et pour tout que du seul renseignement de la capture de 2 larves.

Distribution Hors Congo (ex-Belge).

Cet Anophèle a été signalé au Cameroun, en Côte Ivoire et au Nigéria.

23) *KENIENSIS* Evans 1931

Quelques références.	Références Auteurs
1931 — Evans - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 25:* 130 (var. de *marshalli)*	(157)
1932 — Symes - *Rec. Med. Lab. Kenya:* 25 (var. de *marshalli)* . . .	(60)
1933 — Evans - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 27:* 266 *(A.keniensis)* . .	(159)
1938 — Evans - Mosq. Eth. Reg. - II: 274	(26)
1941 — Edwards - Mosq. Eth. Reg. - III: 470	(22)
1946 — Garnham, Harper & Hington - *Bull.. Ent. Res., 36:* 495 (oeufs)	(163)
* 1946 — Janssens - Cité dans De Meillon 1947	(171)
1947 — De Meillon - Anoph. Eth. Geogr. Reg.: 184	(14)
1955 — Gillies - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 49:* 158-160 (oeufs) . .	(32)
1958 — Van Someren, Heisch & Furlong - *Proc. R. Ent. Soc. Lond.* (B), *27:* 84-88	(182)

Au Congo (ex-Belge) - Récoltes - Observations.

1946. — La seule récolte dont nous avons connaissance est celle signalée par De Meillon (1947: 184), par Janssens à Mongbwalu (Kibali-Ituri).

Remarques.

Cet Anophèle n'est pas considéré comme vecteur dans les régions où il a été capturé. Pour le Congo (ex-Belge), il ne parait jouer aucun rôle dans la transmission de la Malaria humaine, du moins actuellement: les éléments d'observations dont nous disposons, sont de toute évidence, insuffisants.

Distribution hors Congo (ex-Belge).

L'*A. keniensis* a été signalé au Kenya, au Tanganyika et en Uganda.

37) *OBSCURUS* Grünberg 1905

Quelques références.	Références Auteurs
1905 — Grünberg - *Zool. Anz., 29:* 380 *(Myzorhynchus obscurus)* . .	(166)
1907 — Theobald - *Mon. Culic., 4:* 85 *(Myzorhynchus strachmanii)* .	(63)
1924 — Christophers - *Ind. Med. Res. Mem., 3:* 32	(4)
* 1925 — Del Favero - Cité dans Schwetz 1927 (Synopsis)	(151)
* 1926 — Mouchet - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 6:* 175	(176)
* 1927 — Schwetz - *Rev. Zool. Afr., 15:* 271-319 (Synopsis)	(54)
* 1928 — Schwetz - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 8:* 27	(92)
* 1928 — Schouteden - *Rev. Zool, Afr., 15 - Bull. Cercle Zool. Cong., 4:* 104	(177quater)
* 1929 — Schwetz, Collart & Geernick - *Trans. Roy. Soc. Med. Hyg., 22* (5): 457-463	(181bis)
1931 — Evans - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 25:* 129	(157)
1931 — Barber & Olinger - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 25:* 461-501	(145)
1932 — Evans - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 26:* 86 e 98 (var. *nowlini)*	(158)
1932 — Symes - *Rec. Med. Lab., Kenya:* 17	(60)
* 1933 — De Wulf - Dans *Rev. Zool. Bot. Afr., 24 - Bull. C. Zool. Congo., 10:* 43	(153)
* 1934 — Vincke & Henrard - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 14:* 203-217	(183)
1938 — Evans - Mosq. Eth. Reg. - II: 79 (& 87 pour *nowlini*) . . .	(26)
* 1938 — Duren - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 18:* 557	(18)
* 1938 — Schwetz - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 18:* 89-112	(178)

	1941 — Edwards - Mosq. Eth. Reg. - III: 468	(22)	
*	1941 — Schwetz - *Inst. R. Col. Belge, 9:* 1-74		(179)
	1944 — De Meillon & Lavoipierre - *Jl. Ent. Soc. Sth. Afr., 7:* 38-67		(152bis)
*	1945 — Wolfs - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 25:* 1-6 (1re Note)	(113)	
*	1945 — Parent & Demoulin - *Rec. Trav. Sc. Méd. Congo Belge, 3:* 159		(177bis)
*	1946 — Vincke - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 26:* 385	(64)	
	1947 — De Meillon - Anoph. Eth. Geogr. Reg.: 50	(14)	
*	1947 — Schwetz, Baumann & Fort - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 27:* 139-159		(181)
*	1947 — Schwetz, Baumann & Fort - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 27:* 289-313		(180)
*	1948 — Fain & Henrard - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 28:* 7-20		(160)
*	1949 — Reul & Eeraerts - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 29:* 151-175		(186)
*	1949 — Schwetz, Baumann & Fort - *Ann. Sc. Belge Méd. Trop., 29:* 191		(187)
	1951 — De Meillon - *Bull. OMS., 4:* 419 (N. 3)	(15)	
*	1953 - 1959 — Hens - Rapports inédits Léopoldville		(167)
*	1953 — Gillet - *Bull. Inst. R. Col. Belge, 24:* 1342-1361		(164bis)
*	1953 — Bouillon - *Rev. Zool. Bot. Afr., 47:* 480	(72bis)	
*	1953 — Lips - Rapport inédits - Région Albertville		(174)
*	1955 — IRSAC - Rapport annuel 1955		(168)
	1956 — Hamon, Adam & Grjebine - *Bull. OMS., 15:* 449-592	(34)	
	1956 — Lewis - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 50:* 299		(172ter)
	1956 — Lewis - *Bull. Ent. Res., 47:* 475-494		(188)
	1956 — Peters - *Bull. Ent. Res., 47:* 525-551		(177tris)
*	1956 — Vincke & Laarman - *Fol. Sc. Afr. Centr., 2:* 24	(140)	
	1957 — Doby & Mouchet - *Bull. Soc. Path. Exot., 50:* 945-957	(118)	
*	1958 — Jacobs - Rapports inédits Ubangi (Gemena et Libenge)		(169)
	1958 — Lacan - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 23:* 159-170		(172bis)
	1958 — Adam & Hamon - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 25:* 509-512		(142bis)

Au Congo (ex-Belge) - Récoltes - Observations.

1923. — La première récolte au Congo (ex-Belge) parait être celle de Mouchet, à Stanleyville. Cette récolte fut signalée par Schwetz (1927 - synopsis) et fut confirmée par Evans (1938: 81) qui signale en outre la localité de Yasuba. Le nom du récolteur ne nous est pas connu.

1925. — Schwetz signale la récolte de Del Favero à Basoko, et celle de Mouchet dans la même localité (sous la dénomination de *A. umbrosus*).

1929. — Schwetz, Collart et Geernick citent quelques Anophèles parmi lesquels l'*A. obscurus* et disent: « were know to be transmitters ». Il s'agit là, en ce qui concerne l'*A. obscurus*, d'une erreur (des grégarines avaient été pris pour des sporozoïtes).

1932. — Vincke et Henrard le signalent, à l'état adulte à Léopoldville.

1933. — De Wulf le capture à Kisantu. La détermination est confirmée par Evans (1938).

1936. — Selon Duren (1938), Schwetz l'a récolté au Kwango aux Chutes Guillaume (adultes) et à Stanleyville.

1938. — Schwetz signale ses récoltes à Popokabaka, aux Chutes Guillaume et entre les deux lieux de récolte.

1938 à 1940. — Parent et Demoulin récoltent des adultes et des larves à Yangambi.

1941. — Schwetz le signale à Mongbwalu

1944. — De Meillon et Lavoipierre signalent une curieuse observation: des adultes typiques, identiques à ceux de provenance de Mongbwalu récoltés par le Dr. Janssens, ont été obtenu par eclosion de larves *nowlini* récoltées à Yangambi par le Dr. Parent. Cette observation a obligé De Meillon a ranger l'*A. nowlini* Evans 1932 en synonymie. Il est à remarquer que certains auteurs (Adams & Hamon 1958, et d'autres) persistent à considérer l'*A. nowlini* comme variété valable de l'*A. obscurus*. En ce qui nous concerne, nous nous proposons à nous ranger à l'avis de De Meillon, provisoirement. Toutefois, lorsque nous sommes en présence de caractéristiques propres à l'ancien *nowlini*, nous indiquerons: « aspect *nowlini* », tout en conservant l'appellation d'*A. obscurus*.

1945. — Wolfs l'a récolté à Coquilhatville.

1946. — Vincke le signale à Elisabethville

1947. — Schwetz, Baumann et Fort rappellent les récoltes de Wolfs à Coquilhatville et signalent leurs propres captures dans cette localité. Les mêmes auteurs, dans une étude au Kasai, signalent une récolte près de Eolo (Entre Lubilash et Sankuru).

1948. — Fain et Henrard l'ont capturé à Banningville.

1949. — Reul et Eeraerts signalent des adultes à Lisala dans les parcelles des Européens.

1949. — Schwetz, Baumann et Fort, resignalent des récoltes antérieures entre Popokabaka et les chutes Guillaume.

1951. — Il figure sur les listes de captures de l'Hygiène d'Albertville.

1953-59. — A l'état larvaire, l'*A. obscurus* figure sur les rapports de récoltes de l'Hygiène de Léopoldville (Communication verbale avec Mr. John Hens).

1953. — Le R. P. Bouillon l'a récolté à Kalenda (Kasai).

1953. — Lips, dans un rapport inédit, le signale à Albertville, où il figurait depuis de nombreuses années sur les listes de captures de l'Hygiène.

1955. — Il a été capturé par les chercheurs de l'IRSAC, à Irangi. Cette capture fut aussi signalée par Vincke et Laarman en 1956.

1959. — Récolté par Jacobs à Gemana et à Libenge (Province de L'Equateur - District de l'Ubangi).

Remarques.

L' A. *obscurus* à été récolté dans toutes les Provinces du Congo (ex-Belge). Nous n'avons pas trouvé de relation le signalant dans les Territoires sous Tutelle du Ruanda-Urundi. Etant donné son « ubiquité » au Congo

(ex-Belge), nous croyons qu'il pourra aussi être trouvé dans le Ruanda-Urundi.

Selon De Meillon (1951), il est généralement considéré comme *exophile*, et *zoophile*, d'après l'étude de Barber et Olinger: sur 15.000 Anophèles capturés dans les maisons, 15 *A. obscurus* seulement y furent trouvés. Disséqués, on trouva 2 fois des oocystes, mais aucune glande salivaire positive. Les femelles refusent de piquer en captivité, déclarent ces auteurs.

Vincke à Elisabethville, signale 10 dissections négatives.

Dans l'état actuel de nos connaissances, aucun rôle dans la transmission de la Malaria humaine ne peut lui être attribué.

Distribution hors Congo (ex-Belge).

Cet Anophèle a été signalé dans de très nombreuses régions: en Abyssinie, en Afrique Equatoriale Française, en Côte d'Or, au pays des Ashanti, au Libéria, au Moyen-Congo, en Nigérie (Nord et Sud), en Sierra Leone, en Uganda, etc...

54) *VINCKEI* De Meillon 1942

Quelques références.	Références Auteurs	
Pour les larves, consultez aussi *A.cinctus*.		
* 1942 — De Meillon - *Jl. Ent. Soc. Sth Afr., 5:* 87		(152)
* 1944 — Vincke & Parent - *Bull. Ing. Fac. Techn. Hainaut-Mons,* N. 8: 1	(107)	
* 1945 — Parent & Demoulin - *Rec. Trav. Sc. Méd. Congo Belge,* N. 3: 159		(177bis)
* 1946 — Janssens - Dans De Meillon 1947: 89		(171)
* 1947 — De Meillon - Anoph. Eth. Geogr. Reg.: 87	(14)	
* 1955 — Irsac - Rapport annuel 1955		(168)
* 1956 — Vincke & Laarman - *Fol. Sc. Afr. Centr., 2:* 14	(140)	

Au Congo (ex-Belge) - Récoltes - Observations.

1942. — Découvert par Vincke à Stanleyville et décrit par De Meillon.

1944. — Vincke & Parent signalent d'autres récoltes à Stanleyville.

1947. — De Meillon mentionne les récoltes de Janssen dans la région de Kilo-Moto (larves: groupe *cinctus-vinckei*).

1955. — Nous trouvons dans le rapport IRSAC-1955 et dans une prise de date de Vincke & Laarman en 1956, la mention de captures à Irangi, station forestière de l'ISARC (Kivu). Ces auteurs déclarent qu'aucun *A. vinckei* n'a été trouvé piquant l'homme, et qu'il ne fut pas trouvé dans les maisons.

Remarques.

Cet Anophèle parait être, extrèmement rare dans les captures. Il n'est pas possible de lui attribuer un rôle quelconque dans la transmission de

TABLEAU DE DISTRIBUTION DE QUELQUES ANOPHELES FORESTIERS DU CONGO (EX BELGE)

Provinces et localités	8 *cinctus*	20 *hancocki*	21 *hargreavesi*	22bis *jebudensis*	23 *keniensis*	37 *obscurus*	54 *vinckei*	années récoltes	Auteurs e Récolteurs
Equateur.									
1 Coquilhatville	—	—	—	—	—	1	—	1945	Welfs.
	—	—	—	—	—	2	—	1947	Schwets, B. e F.
2 Gemena	1	—	1	—	—	3	—	1958	Jacobs.
3 Libenge	—	—	2	—	—	4	—	1958	Jacobs.
Kasai.									
4 Kabinda	—	1	—	—	—	—	—	1937	Duren.
5 Kalenda	2	—	—	—	—	5	—	1953	Bouillon.
6 Eolo	—	—	—	—	—	6	—	1937	Schwetz.
7 Tshikapa	—	2	—	—	—	—	—	1937	Duren.
Katanga.									
8 Albertville	—	—	—	—	—	7	—	1953	Lips.
9 Elisabethville	—	3	—	—	—	8	—	1946	Vincke.
	—	—	3	—	—	—	—	1956	Lips (1945-56)
Kivu.									
10 Irangi	3	—	—	1	—	9	1	1955	IRSAC-Vincke e Laarm.
Léopoldville.									
11 Banningville	—	—	—	—	—	10	—	1948	Fain et Henrard.
12 Edudu	—	—	4	—	—	—	—	1948	Fain et Henrard.
13 Guillaume (Chute)	—	—	—	—	—	11	—	1936	Schwetz.
14 Kisantu	—	—	—	—	—	12	—	1933	De Wulf.
15 Lampa	—	4	—	—	—	—	—	1936	Schwetz.
16 Léopoldville	—	—	—	—	—	13	—	1932	Vincke e Henrard.
	—	5	—	—	—	—	—	1947	De Meillon.
	—	—	—	—	—	14	—	1953	Hens-Hyg.Léo.
17 Mekwo	—	—	5	—	—	—	—	1948	Fain e Henrard.
18 Popokabaka	—	6	—	—	—	—	—	1936	Schwetz.
	—	—	—	—	—	15	—	1949	Schw.Baum.e Fort.
19 Tshela	—	7	—	—	—	—	—	1949	Schw.Baum.e Fort.
20 Thysville	—	8	—	—	—	—	—	1949	Schw.Baum.e Fort.
Orientale.									
21 Basoko	—	—	—	—	—	16	—	1925	Del Fav.-Mouchet.
22 Kilo-Moto	4	—	—	—	—	—	2	1946	Janssens.
23 Mongbwalu	—	—	—	—	1	17	—	1946	Janssens.
	—	—	—	—	—	18	—	1941	Schwetz.
24 Stanleyville	—	—	6	—	—	19	—	1923	Mouchet.
	—	—	—	—	—	—	—	1936	Schwetz.
	—	—	—	—	—	—	3	1942	Vincke-Parent.
25 Watsa	—	9	—	—	—	—	—	1947	De Meillon.
26 Yangambi	—	—	—	—	—	20	4	1938	Parent e Demoul.
27 Yasuba	—	—	—	—	—	21	—	1938	Evans.
Ruanda-Urundi.									

la Malaria humaine. Nous le classons donc dans la catégorie des « sans importance » actuellement.

Distribution hors Congo (ex-Belge).

Nous n'avons pas connaissance d'une récolte de cet Anophèle, hors des Territoires du Congo (ex-Belge).

CONGO (EX-BELGIAN) ANOPHELINES. 4. SOME FOREST SPECIES

This fourth Note on the revision of the Anophelines from the Congo (ex-Belgian) concern some forest species: *cinctus, hancocki, hargreavesi, jebudensis, keniensis, obscurus* and *vinckei.*

At the present time, this seven Anophelines cannot be incriminated as human Malariavectors in this country.

Attention is given to the presence of *A.hancocki,* vector of secondary importance, and *A.hargreavesi,* a most important vector, in other regions

The « forest environment » and some of his Anopheline fauna, may be encountered in the South, where a prolonged dry season exist. The « rainfall » factor appears therefore, in this case, of no importance, but the « constant humidity » (with the temperature of a certain stability), in some « microclimates » must be noted.

Carte de repartition.

Nous nous excusons pour l'absence de carte de la répartition. Suite aux évènements du Congo (ex-Belge), une partie seulement, de nos bagages qui contenaient nos notes et nos documents, ne nous est parvenue, qu'au mois de juin 1961.

BIBLIOGRAPHIE (*)

(116) ADAM (1955) *A.cinctus.*

(141bis) ADAM J. P. (1957) - Présence de l'*A. jebudensis* Froud en Côte D'Ivoire - Position systématique de cet Anophèle - *Bull Soc. Path. Exot., 50:* 671-675 *A.jebudensis.*

(142) ADAM J. P., HAMON J. (1956) - Trois Anophèles nouveaux pour le Caméroun: *A.hargreavesi, A. freetownensis* et *A.jebudensis* - *Bull. Soc. Path. Exot., 49:* 71-76. *A.hargreavesi, A.jebudensis.*

(142bis) ADAM J. P. & HAMON J. (1958) - I. Présence en Côte d'Ivoire de l'*A.paludis* Theo. 1900 et *A.obscurus* var. *nowlini* Evans 1932. II. Comparaison des terminalia des espèces éburnéennes du sous genre *Anopheles.* - *Ann. parasitol. Hum. Comp., 33 (4):* 509-512. *A.obscurus (& A.nowlini).*

(143) ADAM J. P., HAMON J., RICHENBACH A. & LIPS M. (1956) - I. Description du mâle et du pharynx de la femelle d'*A.brohieri* Edw. 1929 et *A.hancocki* var. *masseguini* Hamon 1954. II. Etude des affinités existant entre *A.hancocki, A.hancocki* var. *masseguini, A. brohieri, A.theileri* et *A.seydeli. Bull. Soc. Path. Exot., 49:* 747-758. *A.hancocki.*

(117) ADAM & MATTINGLY (1956). *A.hargreavesi.*

(144) ANDERSON (1932) - Cité dans Evans 1938: 203. *A.hargreavesi.*

(145) BARBER M. A. & OLINGER M. T. (1931): Studies on Malaria in Southern Nigeria. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 25:* 461-501. *A.hargreavesi, A.obscurus.*

(146) BARBER M. A., RICE J. B. & BROWN J. Y (1932): Malaria studies on the Firestone Rubber Plantation in Liberia, West Africa. - *Americ. Jl. Hyg., 15:* 601-633. *A.hancocki*

(*) La bibliographie complète a été donnée pour les numéros 1 à 17 (I.re Note), 72 à 113 (2.me Note), 114 à 141 (3.me Note).

(147) BARBER M. A. (1932): Cité dans Evans 1938: 129. *A.cinctus.*

(148) BLACKLOCK D. B. & EVANS A. M. (1926) - Breeding places of Anopheline mosquitoes in and around Freetown, Sierra Leone. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 20:* 59-84. *A.hancocki.*

(72bis) BOUILLON (1953). *A.cinctus, A.obscurus.*

(4) CHRISTOPHERS (1924). *A.obscurus.*

(194) CHRISTOPHERS S. R. & PURI I. M. (1931): Notes on some Anopheline mosquitoes collected in Sierra Leone - Including differentiation of *A.d'thali* Patton (Mediteranean) as a distant species from *A.rhodesiensis* Theobald (Ethiopian) - *Ind. J. Med. Res., 18:* 1133. *A.hancocki.*

(150) COLLADO J. G. (1936) - Culicidos de la Isla de Fernando Poo recognidos por la expedicion J. Fil and F. Bonet. - *Eos,* Madrid, *2:* 311. *A.cinctus.*

(151) DEL FAVERO (1925) - Cité dans Schwetz 1927 (Synopsis). *A.obscurus.*

(6) DE MEILLON (1931). *A.hancocki.*

(152) DE MEILLON B. (1942) - New Nematocera from the Ethiopian Region. *Jl. Ent. Soc. Sthrn. Afr., 5:* 87-98. *A.vinckei.*

(14) DE MEILLON (1947). *A.cinctus, A.hancocki, A.hargreavesi, A.jebudensis, A.keniensis, A.obscurus, A.vinckei.*

(15) DE MEILLON (1951). *A.hancocki, A.hargreavesi* et *A.obscurus.*

(152bis) DE MEILLON B. & LAVOIPIERRE M. (1944) - New records and species of biting insects from the Ethiopian Region - *Jl Ent. Soc. Sthrn. Afr., 7:* 38-67. *A.obscurus (& nowlini).*

(153) DE WULF (1933) - Divers moustiques du Congo Belge - *Rev. Zool. Bot. Afr., 24* - *Bull. Cercle Zool. Cong., 10:* 43. *A. obscurus.*

(118) DOBY & MOUCHET (1957). *A. obscurus.*

(18) DUREN (1938). *A. hancocki, A. hargeavesi* et *A. obscurus.*

(154) EDWARDS F. W. (1929) - Mosquito Notes - VIII. - *Bull. Ent. Res., 20:* 321-343. *A. hancocki.*

(22) EDWARDS (1941). *A. cinctus, A. hancocki, A. hargreavesi, A. keniensis, A. obscurus.*

(155) EVANS A. M. (1926) - Notes on Freetown mosquitoes, with description on new and little know species. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 20:* 97-106. *A. hancocki.*

(23) EVANS (1927). *A. cinctus* et *A. hargreavesi.*

(156) EVANS A. M. (1929) - Notes on certain varieties of *Anopheles marshalli* Theobald. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 23:* 415-425. *A. hargreavesi*

(157) EVANS A. M. (1931) - Notes on African Anophelines - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 25:* 129-143. *A. hargreavesi, A. keniensis* et *A. obscurus.*

(158) EVANS A. M. (1932) - Notes on African mosquitoes. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 26:* 85-108. *A. cinctus* et *A. obscurus.*

(159) EVANS A. M. (1933) - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 27:* 265. *A. keniensis.*

(25) EVANS (1934). *A. hancocki.*

(26) EVANS (1938). *A.cinctus, A.hancocki, A. hargreavesi, A.keniensis* et *A.obscurus.*

(160) FAIN A. & HENRARD C. (1948) - Quelques moustiques du Fleuve Congo (Chenal) et des rivières Kasai et Kwango. - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 28:* 3-20. *A. hargreavesi* et *A. obscurus.*

(161) FOX R. M. (1958) - Man biting mosquitoes in coastal Liberia. *Americ. Jl. Trop. Med. Hyg., 7* (2): 215-220. *A. hancocki.*

(162) FROUD M. D. (1944) - *Anopheles jebudensis* sp. nov., a new Anopheline mosquito from Southern Nigeria. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 28:* 73. *A. jebudensis.*

(163) GARNHAM P. C. C., HARPER J. O. & HIGHTON R. B. (1946) - The mosquitoes of Kaimosi forest, Kenya Colony, with special reference to Yellow Fever. - *Bull. Ent. Res., 36:* 473-496. *A. keniensis.*

(80) GIBBINS (1932). *A. hancocki.*

(81) GIBBINS (1933). *A. hancocki.*

(164) GIBBINS E. G. (1933) - The domestic Anopheles mosquitoes of Uganda. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 27:* 15. *A. hancocki.*

(164bis) GILLET J. (1953) - Le Paludisme au Congo Belge et au Ruanda-Urundi. - *Bull. Inst. Roy. Col. Belge, 29:* 1341-1361. *A. obscurus.*

(32) GILLIES (1955). *A. keniensis.*

(165) GORDON R. M., HICKS E. P., DAVEY T. H. & WATSON M. (1932) - A study of the house haunting Culicidae occuring in Freetown, Sierra Leone. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 26:* 273. *A. hancocki.*

(166) GRUNBERG K. (1905) - Zur Kenntnis der Culiciden fauna von Kamerun und Togo. - *Zool. Anz., 29:* 377-390. *A. obscurus.*

(34) HAMON, ADAM & GRJEBINE (1956). *A. cinctus, A. hancocki, A. hargreavesi, A. jebudensis* et *A. obscurus.*
(82) HANCOCK (1930). *A. hancocki.*
(84) HOLSTEIN (1951). *A. hancocki.*
(167) HENS J. (1953-1959) - Rapports inédits de l'Hygiène Léopoldville. *A. obscurus.*
(168) I. R. S. A. C. (1955) - Rapport annuel 1955. *A. cinctus, A. obscurus* et *A. vinckei.*
(169) JACOBS Is. (1957-1959) - Rapports inédits Ubangi (Gemena et Libenge). *A. cinctus, A. hargreavesi* et *A. obscurus.*
(170) JAMES S. P. (1929) - Report on a visit to Kenya and Uganda to advise on anti-malarial measures. - Crown Agents for the Colony - London. *A. hancocki.*
(171) JANSSENS P. G. (1946) - Cité dans De Meillon 1947. *A. cinctus, A. keniensis* e *A. vinckei.*
(172) KERR J. A. (1933) - Studies on the abundance, distribution and feeding habits of some West African mosquitoes. *Bull. Ent. Res., 24:* 492-510. *A. hargreavesi.*
(172bis) LACAN A. (1958) - Les Anophèles de l'Afrique Equatoriale Française et leur répartition. - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 23* (1-2): 150-170. *A. cinctus, A. jebudensis* et *A. hancocki.*
(172ter) LEWIS D. J. (1956) - The medical entomology of the Tonkolili valley, Sierra Leone. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 50* (3): 299. *A. hancocki* et *A. obscurus.*
(173) LIPS M. A. H. (1945-1956) - Rapports nédits Elisabethville. *A. hargreavesi.*
(174) LIPS M. A. H. (1953-1954) - Rapports inédits District Tanganyika. *A. obscurus.*
(74) MATTINGLY (1944). *A. cinctus, A. hancocki* et *A. hargreavesi.*
(175) MATTINGLY P. F. (1947) - Notes on the early stages of certain Ethiopian mosquitoes with some locality records from British West Africa. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 41:* 239-252. *A. jebudensis.*
(176) MOUCHET R. (1926) - Notes sur la répartition des gîtes à moustiques à Stanleyville. - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 6:* 175 (et dans Schwetz 1927 - Synopsis). *A. obscurus.*
(177) NEWSTEAD R. & CARTER (1910) - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 4.* *A. cinctus.*
(177bis) PARENT M. & DEMOULIN M. L. (1945) - La faune anophèlienne à Yangambi (INEAC). Biologie d'*A. moucheti* Evans, spécialement. Applications statistiques. - *Rec. Trav. Sc. Méd. Congo Belge, N. 3:* 159-163. *A. cinctus, A. obscurus* et *A. vinckei.*
(177ter) PETERS W. (1956) - The mosquitoes of Liberia (Diptera: Culicidae). A general survey. - *Bull. Ent. Res., 47* (3): 525-551. *A. cinctus, A. hancocki, A. hargreavesi* et *A. obscurus.*
(177 quater) SCHOUTEDEN H. (1928) - Les Anophèles Congolais. - *Rev. Zool. Bot. Afr., 15.* - *Bull. Cercle Zool. Cong., 4:* 104. *A. obscurus.*
(92) SCHWETZ (1928). *A. obscurus.*
(178) SCHWETZ J. (1938) - Contribution à l'étude des moustiques de quelques localités du Bas-Congo et du Kwango. - *Ann. Soc. Méd. Trop., 18:* 89-112. *A. hancocki.*
(179) SCHWETZ J. (1941) - Recherches sur le Paludisme dans les villages et les camps de la division de Mongbwalu des mines d'or de Kilo-Moto (Congo Belge). - *Bull. Inst. Roy. Col. Belge Mém., 9* (2): 1-74 *A. obscurus.*
(180) SCHWETZ J., BAUMANN H. & FORT M. (1947) - Nouvelles recherches sur la répartition des Anophèles et du Paludisme endémique au Congo Belge. I. Région de Lubilash-Sankuru. - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 27:* 289-313. *A. obscurus.*
(181) SCHWETZ J., BAUMANN H. & FORT M. (1947) - Nouvelles recherches sur les Anophèles et le Paludisme endémique dans l'agglomération de Coquilhatville (Congo Belge). - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 27:* 139-159. *A. obscurus.*
(181bis) SCHWETZ J., COLLART & GEERNICK (1929) - *Trans. Roy. Soc. Med. Hyg., 22* (5): 457-463. *A. obscurus.*
(60) SYMES (1932). *A. keniensis* et *A. obscurus.*
(63) THEOBALD (1907). *A. obscurus.*
(182) VAN SOMEREN E. C. C., HEISCH R. B. & FURLONG M. (1958) - Observations on the behaviour of some mosquitoes of the Kenya coast. - *Bull. Ent. Res., 49:* 643-660). *A. keniensis.*
(64) VINCKE (1946). *A. hancocki* et *A. obscurus.*
(183) VINCKE I. & HENRARD C. (1934) - Note sur la Lutte Antipaludique à Léopoldville. - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 14:* 203-217. *A. obscurus.*
(140) VINCKE & LAARMAN (1956). *A. cinctus, A jebudensis, A. obscurus* et *A. vinckei.*

(107) VINCKE & PARENT (1944). *A. vinckei.*
(184) WILSON D. B. (1947) - Malaria in Madagascar - *East Afr. Med. Jl., 24:* 171. *A. hancocki.*
(113) WOLFS (1945). *A. obscurus.*
(185) ZUMPT F. (1937) - Stecmückenstudien in Pflanzungagebiet des Kamerunbergers. - *Tropenpflanzer, 40:* 366-383. *A. hancocki.*

ADDENDA.

(186) REUL R. & EERAERTS W. (1949) - Une épidémie de « dengue like fever » dans la Province de l'Equateur au Congo Belge. - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 29:* 151-175. *A. obscurus.*
(187) SCHWETZ J., BAUMANN H. & FORT M. (1949) - Contribution à l'étude du Paludisme dans le District du Kwango (4me étude). - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 29* (2): 191-205. *A. obscurus.*
(188) LEWIS D. J. (1956) - *Bull. Ent. Res., 47:* 475-494. *A. obscurus.*

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 3 - Settembre 1961

RECENSIONI

BAER H. W. - *Anopheles und Malaria in Thüringen.* Parasitologische Schriftenreihe, Vol. 12, pp. V+154, 1 fig., 92 tab., 20 curve climatiche, 1 carta a colori. Gustav Fischer Verlag, Jena. 1960, DM. 28.10.

Dopo una breve introduzione sull'anofelismo e sulla trasmissione della malaria in Germania, nella prima parte del lavoro sono riportati in dettaglio i risultati delle ricerche effettuate nel 1953-1955 in Turingia, sulla distribuzione e la densità delle cinque specie anofeliche riscontrate, con osservazioni sull'influenza dei fattori climatici, dati di ecologia e sull'ibernamento. Del gruppo *A. maculipennis*, l'*A. messeae* Falleroni rappresenta la specie più numerosa, con un alta densità lungo i bacini fluviali; l'*A. maculipennis maculipennis* Meigen è il più diffuso però meno numeroso del precedente; l'*A. labranchiae atroparvus* van Thiel è stato trovato soltanto in quattro località della Turingia. Degli anofeli non appartenenti al gruppo *maculipennis* l'*A. claviger* Meigen, tipicamente ma non esclusivamente specie esofila, è limitato alle parti basse dei bacini fluviali; l'*A. plumbeus* Stephens fu riscontrato soltanto in minima quantità e sempre catturato all'aperto sull'uomo. Sia l'*A. maculipennis* che l'*A. atroparvus* sono stati segnalati per la prima volta in Turingia.

Nella seconda parte del lavoro sono riportati i dati sui casi di malaria nei differenti distretti della Turingia durante gli anni 1941-1953. Sono stati riscontrati durante tale periodo 1962 casi, quasi tutti dovuti a *P. vivax;* la metà, circa, dei casi erano recidive, l'altra metà dei casi era data da casi importati o di dubbia origine. Soltanto 11 casi furono riconosciuti quali autoctoni e primitivi, l'ultimo dei quali fu trovato nel 1949. Il maggior numero dei casi di malaria venne osservato nel 1948 e nel 1951 cessò praticamente la malattia.

Nell'ultima parte del lavoro viene trattata la relazione tra la distribuzione anofelica e i casi di malaria con la conclusione che la bassa densità anofelica, che aumentò soltanto di poco a causa della guerra, e le condizioni igieniche e di nutrizione relativamente buone della popolazione in Turingia sono da considerarsi quali i principali fattori che si opposero ad una nuova diffusione della malaria in Turingia dopo l'ultima guerra mondiale.

E. MOSNA

BERGER E. e MELNICK J. L. (Editori). *Progress in medical virology.* Vol. III, pp. 494. Karger, Basilea, 1961. Fr. s.80.

Questa pubblicazione periodica, curata da Berger di Basilea e da Melnick di Houston, nel Texas, è giunta al suo III volume in poco più di tre anni: se si deve giudicare dal numero delle pagine salite a 494 da 304 che erano, ciò significa che l'iniziativa degli Editori ha incontrato il favore dei cultori di virologia. Infatti le pubblicazioni sui diversi argomenti di questa branca della microbiologia sono ormai così numerose, che è davvero molto utile che qualche A. si prenda il compito gravoso e noioso di raccogliere, di condensare e possibilmente di fare il punto sui dati noti attraverso la letteratura su quel determinato soggetto.

In questo volume sono presi in considerazione da ricercatori molto qualificati alcuni dei più attuali problemi della virologia medica, problemi quindi di natura più strettamente pratica e non puramente accademici.

La Schmidt tratta, insieme con Lennette, i progressi della sierologia, i cui metodi risultano di utilità sempre maggiore, specialmente con l'applicazione di alcune delle tecniche più comuni, nello studio clinico ed epidemiologico. In un capitolo a parte G. Poetschke esamina invece l'uso ed i risultati ormai già ottenuti, soprattutto nel campo dei virus animali, con il metodo degli anticorpi fluorescenti: metodo relativamente recente, ma già ricco di molti dati e che promette ancora copiose nozioni.

W. C. Reeves considera il problema del mantenimento dei virus trasmessi da artropodi, nelle zone endemiche, durante la stagione fredda, quando viene interrotta la normale catena di trasmissione. La chemioterapia dei virus, per quanto ancora così povera di risultati pratici, resta pur sempre un argomento di notevole interesse: E. C. Hermann tratta dei mezzi per stabilire e misurare l'attività antivirale dei medicamenti.

H. M. Gelfand riassume il grosso problema della presenza in natura dei virus Coxsackie ed ECHO, problema tanto più importante in quanto il numero dei virus appartenenti a quest'ultimo gruppo e apparentemente collegati con malattie respiratorie diventa sempre più numeroso.

A. A. Smorodintsev espone i nuovi dati ottenuti in Russia e più precisamente dal gruppo di Leningrado, dall'impiego di vaccini vivi (contro la poliomielite, contro la parotite e contro il morbillo), cui tanta importanza e tanto vigoroso impulso si dà nelle Repubbliche Sovietiche.

R. J. Blattner e F. M. Heys riassumono i dati sugli effetti dei virus sul feto e come causa di malformazioni congenite. Dmochowsky, infine, espone l'eziologia virale della leucemia del topo, con tutta la massa di nozioni acquisite in questi ultimissimi anni su di un argomento così vivo e così importante, specialmente in rapporto alla possibilità di isolare dei virus anche nei tumori umani.

Come si vede, questo volume contiene rassegne di problemi oltremodo interessanti: per questo non si può che raccomandarlo agli studiosi di virologia. Esso non dovrebbe mancare nella biblioteca specialistica.

I. ARCHETTI

CHANDLER A. C., READ C. P. - *Introduction to parasitology.* X ed., XII+822 pp., 258 figg. John Wiley & Sons, New York, 1961 $ 9.75.

La X edizione di questa notissima opera, che compare a sei anni dalla precedente, affianca al nome dello Chandler, scomparso nel 1958, quello del Prof. Read che allo Chandler stesso è successo nella cattedra di Biologia al Rice Institute.

L'opera, rimasta sostanzialmente invariata nella sua struttura generale, è stata oggetto non di un semplice aggiornamento ma bensì di una completa revisione che investe si può dire ogni pagina, con modifiche sia di sostanza che di forma: ogni nuova nozione acquisita fino a tutto il 1959 è stata inserita al suo giusto posto; ogni elemento risultato superfluo è stato eliminato; vari paragrafi sono stati completamente rifatti; altre parti sono state profondamente rimaneggiate e diversamente disposte.

Le più importanti modifiche riguardano: le Spirochete, abolite come capitolo a sè stante subito dopo l'« Introduzione ai Protozoi », ma trattate in forma ridotta nel nuovo capitolo, già paragrafo, « Organismi diversi dai Protozoi che si sviluppano negli Artropodi »; e la Parte III « Artropodi ». In questa troviamo p. es. rifatti od assai rimaneggiati i paragrafi: « Insetticidi e repellenti », cui è stata anche aggiunta una breve trattazione del fenomeno della resistenza; « Zecche e malattie trasmesse da esse »; « Cimici e malattie »; « Pulci e peste »; la parte relativa ai gruppi ecologici delle zanzare, che ha avuto il nuovo titolo « Relazioni con l'uomo »; « Zanzare e virosi ».

La bibliografia posta al termine di ogni capitolo è stata debitamente aggiornata. Qualche figura è stata aggiunta e qualche altra ne ha sostituito di precedenti meno soddisfacenti. Nulla è stato in sostanza trascurato a che questa nuova edizione risultasse, per quanto possibile, migliorata, sì da continuare a costituire uno dei migliori testi di parassitologia a disposizione degli studiosi.

Ottimamente curata, come di solito, la parte editoriale.

M. RICCI

HAWKER L. E., LINTON A. H., FOLKES B. F. e CARLILE M. J. - *An introduction to the Biology of Micro-organisms.* VII+452 pp. Edward Arnold Publ., London, 1960. 35 sh.

Questo volume, scritto in particolare per gli studenti universitari, ma che si rivolge anche ai cultori delle scienze biologiche in generale, vuole rappresentare un tentativo da parte degli Autori per riempire il vuoto che, secondo essi, si ha di solito nei corsi normali di microbiologia, dove si parla soprattutto di batteri e più specialmente di quelli patogeni, trascurando, a volte quasi completamente, la parte importante che hanno nel mondo biologico tutti gli altri microrganismi.

Come è detto nella prefazione, il libro non è un testo completo di microbiologia, ma è una introduzione generale allo studio dei gruppi più importanti di microrganismi. Dopo una brevissima introduzione sulle caratteristiche biologiche e morfologiche dei microrganismi considerati nel volume, seguono tre speciali sezioni dedicate più specialmente alla morfologia ed ai cicli vitali, alla fisiologia ed al metabolismo ed infine alla ecologia dei microrganismi stessi.

Nella prima sezione sono descritti, in 5 capitoli, i caratteri specifici dei batteri, dei funghi, dei protozoi e dei mixomiceti, delle alghe e dei virus. Nella seconda sezione vi sono 6 capitoli sulla chimica, sul metabolismo, sulla nutrizione, sull'accrescimento, sulla riproduzione e sui fenomeni di sopravvivenza, di latenza, di senescenza e di morte. Nella terza sezione un capitolo tratta della microbiologia del terreno, uno quello dell'aria e dell'acqua, uno parla dei microrganismi delle piante, uno di quelli degli animali; vi è un capitolo sulla microbiologia dei cibi e degli altri prodotti del commercio ed infine un capitolo sulle fermentazioni applicate all'industria. Chiude il volume una breve appendice su alcune fra le tecniche di laboratorio più importanti.

Questo testo inglese è da raccomandarsi in Italia, più che allo studente, a chi si dedica alla ricerca ed ha bisogno di una guida pratica iniziale, che gli dia una visione sintetica del mondo dei microrganismi.

I. ARCHETTI

KOTLAN A.: *Helminthologie.* 632 pp., 261 figg., 4 tavv. f. t. a colori. Akadémiai Kiado, Budapest 1960. s.i.p.

Il contenuto di questo nuovo testo di elmintologia dovuto alla penna del Prof. Kotlan, Direttore dell'Istituto di Zoologia Generale e Parassitologia della Scuola di Medicina Veterinaria di Budapest e noto studioso della materia, è precisato dal suo sottotitolo « Elmintiasi degli animali domestici ed utili con riguardo alle elmintiasi dell'uomo ». L'A. ha infatti ritenuto opportuno, e giustamente in considerazione del fatto che moltissime elmintiasi sono delle zoonosi, di affiancare alla trattazione della elmintologia veterinaria, che sempre resta la parte essenziale, quella della elmintologia umana.

L'opera raccoglie i dati delle conoscenze acquisite fino a tutto il 1958. Essa consta di una Introduzione, nel corso della quale viene anche trattato l'argomento della Nomenclatura delle elmintiasi, e di quattro parti, ognuna dedicata ad uno dei quattro grandi gruppi in cui si ripartiscono gli elminti: Trematodi, Cestodi, Nematodi, Acantocefali. La trattazione non è fatta per specie di elminti, come in genere si usa, ma per elmintiasi; i parassiti sono cioè illustrati in quanto agenti di una determinata parassitosi. Ne consegue che più specie vengono considerate insieme ove sia comune l'azione patogena svolta: un capitolo riguarda p. es. « le tenidosi — le elmintiasi cioè da rappresentanti della fam. *Taeniidae* — dell'uomo e degli animali domestici »: precede la sistematica e morfologia delle specie dei gen. *Taenia*, ripartito nei suoi sottogeneri, ed *Echinococcus;* si ha quindi la biologia dei tenidi, la patologia dei tenidi, la terapia delle tenidosi; in distinti sottocapitoli, e con paragrafi relativi alle diverse specie, seguono infine le cisticercosi, le cenurosi, le echinococcosi.

L'informazione su ogni argomento è aggiornata ed esauriente, e ben equilibrata risulta l'estensione data alle varie parti. Ricca è l'iconografia, per oltre metà originale e accuratamente scelta per il resto, in massima parte, da lavori recenti; solo alcune fotografie lasciano un po' a desiderare come chiarezza. Una bibliografia di oltre 500 titoli ed un indice per materia completano l'opera.

M. RICCI

SMITH K. M. e LAUFFER M. A. - *Advances in Virus Research.* IX+397 pp. Academic Press, New York, 1960. $ 10.00.

La serie « Progressi nella ricerca virologica » è ormai giunta al suo settimo anno e anche il volume del 1960 non vien meno alla tradizione, che fa di queste pubblicazioni quasi un vade-mecum quotidiano per lo studioso della materia, data la messe utilissima di dati che si trovano nelle singole trattazioni. Gli argomenti sono fra i più attuali e coloro che hanno compilato i vari capitoli sono tutti ben noti nel campo specialistico.

La biosintesi del virus della poliomelite nelle colture di tessuto, di J. E. Darnell e H. Eagle, costituisce quasi un modello per la ricerca sul destino di ogni virus allorché penetra nella cellula sensibile. Il rapporto antigenico, non ancora completamente chiaro, ma pure ricco di possibili conseguenze teoriche e pratiche, fra i virus del morbillo, del cimurro e della peste bovina, è trattato da J. Warren. Seguono i capitoli sul polioma, dovuti alla Stewart e alla Eddy: sono raccolti in essi tutti i dati, che si hanno sino ad oggi, sulle proprietà biofisiche e sui risultati sperimentali ottenuti con questo virus, che già tanti contributi ha fatto dare allo studio dei rapporti fra virus e tumori. L. Kilham considera il problema della trasformazione del virus del fibroma in quello del mixoma, come si può ricercare nelle colture di tessuto: la possibilità di studiare in questo modo il comportamento del DNA virale in relazione al processo di infezione della cellula ospite rende questo argomento particolarmente attuale.

Vi sono due capitoli sui virus vegetali: uno sulla biologia dei virus la cui trasmissione è legata al suolo ed uno sulla variazione, come si verifica nei virus di questo gruppo. Dopo una rivista di M. K. Brakke sulla centrifugazione in gradiente di densità, considerata dal punto di vista teorico e pratico per la purificazione dei virus, vi è una importante trattazione fatta da A. Klug e D. L. D. Casparr sulla struttura dei virus piccoli: le ricerche di questi ultimi anni hanno contribuito molto alla conoscenza di come è formata la particella virale, così che diverse delle vecchie nozioni sono praticamente cadute. L'argomento è di grande attualità e ricco di promettenti risultati.

Chiude il volume una rivista di Smorodintsev sulla resistenza non specifica ai virus negli animali e nell'uomo, soggetto cui l'Autore e la Scuola russa si sono particolarmente dedicati.

I. ARCHETTI

SZIDAT L.: *Versuch einer Zoogeographie des Süd-Atlantik mit Hifle von Leitparasiten der Meeresfische.* Parasitologische Schriftenreihe, heft 13, 4+98 pp., 54 figg., 5 carte. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1961. DM 10,55.

La pubblicazione illustra i risultati di una vasta ricerca svolta nel corso dell'Anno Geofisico Internazionale 1957-1958, come contributo all'« Operazione Merluzzo » del Dipartimento di Oceanografia del Ministero della Marina dell'Argentina, ed è veramente di grandissimo interesse in quanto brillantemente dimostra come la parassitologia possa in certi casi contribuire in modo determinante alla soluzione di problemi zoogeografici interessanti gli ospiti.

Lo spunto alla ricerca è stato dato da un precedente lavoro dell'A. da cui era emerso che i parassiti di *Merluccius hubbsi* della costa argentina erano ben distinti da quelli dei merluzzi del nord Atlantico, noti solo per il Pacifico e di carattere più primitivo; d'onde la deduzione che *Merluccius hubbsi* doveva discendere da specie del Pacifico e non, come si riteneva, del Nord Atlantico. Lo studio della fauna parassitaria degli altri *Gadiformes* argentini ha permesso di riconoscere che essa era identica a quella di *Merluccius hubbsi* per altre tre specie, per le quali si doveva quindi accettare l'origine dal Pacifico, mentre era nettamente diversa e propria del Nord Atlantico per una quarta, che quindi da tale regione si doveva ritenere originaria, pur appartenendo essa alla stessa famiglia di *Merluccius hubbsi* e vivendo da migliaia di anni nello stesso biotopo degli altri Gadiformi considerati. La mancata trasmissione reciproca di parassiti tra tali ospiti affini viene riferita a differenze biochimiche stabilitesi tra essi nel corso delle ere geologiche. I risultati complessivi sono anche discussi ed interpretati in relazione alle « regole parassitogeniche » di Eichler e dello stesso A.

Una analoga ricerca svolta sui parassiti dei rappresentanti argentini degli *Heterosomata,* altro ordine di Pesci a distribuzione mondiale, ha confermato le risultanze ottenute dimostrando che, in base ai parassiti, delle quattro specie prese in esame due dovevano essere di origine atlantica e due di origine pacifica. Essa ha inoltre consen-

tito, in relazione al comportamento dei parassiti degli *Heterosomata*, — nessuno esclusivo del gruppo, tutti essendo stati incontrati in altri ordini di Pesci, ma costanti in una specie ospite in una stessa località — di affermare un'altra regola parassitologica e cioè quella della « specificità locale ».

Ricordiamo ancora che nel corso del lavoro vengono descritte un nuovo genere e tre nuove specie di Trematodi, una nuova specie di Cestode ed una nuova specie di Nematode.

M. RICCI

Bibliography on bilharziasis, 158 pp.. O.M.S., Genève 1960. sh. 10 o dls 2.00 o Frs. 6 (Depositario per l'Italia: Ed. Minerva Medica, Torino).

Questa opera aggiorna le precedenti di Khalil, riguardante i dati bibliografici fino al 1931, e di Bouillon, relativa a quelli dal 1931 al 1948.

Dopo una breve introduzione, in inglese ed in francese, vengono elencati, per ordine alfabetico degli AA., 2781 titoli di lavori pubblicati tra il 1949 ed il 1958. Un indice per materie e paesi, ancora in inglese ed in francese, con rinvio ai numeri dei titoli, consente di orientarsi verso precise informazioni.

Tale aggiornamento bibliografico rappresenta indubbiamente un cospicuo concreto aiuto per quanti sono interessati ai problemi della schistosomiasi.

M. RICCI

Aircraft Disinsection. Elventh Report of the Expert Committee on Insecticides. W.H.O., Technical Report Series N. 206, Geneva, 1961, pp. 26. Fr.s. 1.

Il crescente volume del traffico aereo internazionale e l'aspirazione di una eradicazione su scala mondiale di *Aedes aegypti* e della malaria hanno polarizzato da qualche tempo l'attenzione sul problema dei rapporti tra insetti vettori e traffico aereo. L'O.M.S. ha pubblicato nel 1959 un primo rapporto sommario sulla introduzione di malattie attraverso una accidentale importazione di vettori via aerea. Sin da allora fu messo in evidenza che due erano i problemi fondamentali da affrontare: la lotta contro i vettori nell'intero aereoporto e quella contro gli insetti nascosti nei singoli aerei. Poiché i metodi correnti per la lotta antinsetti non si possono sempre usare è stata nominata una commissione di esperti che dà le seguenti raccomandazioni:

1) *Per la protezione degli aeroporti.* La commissione raccomanda di attenersi alle seguenti norme: *a)* L'area di un aeroporto deve essere sgombra da focolai larvali di *Aedes aegypti* ed altri anofelini; *b)* per almeno 400 m. intorno al confine dell'aereoporto deve essere condotta una lotta contro le larve e gli adulti di *A. aegypti* e di altri anofelini; *c)* dovendo costruire un nuovo aeroporto, evitare le zone paludose o se ciò non è possibile, provvedere che un personale esperto conduca una lotta antivettori.

2) *Per la protezione dei singoli aerei.* La commissione deplora che nonostante precedenti raccomandazioni si usi ancora l'aerosol durante il volo e in certi casi si è visto che così più dell'80% delle zanzare giungono vive all'arrivo, inoltre gli insetti possono sfuggire attraverso i finestrini aperti dell'aereo. Le norme da seguire sono le seguenti: *a)* l'aerosol deve essere spruzzato nelle cabine dei passeggeri a sportelli chiusi prima o durante l'imbarco; *b)* la parte dell'aereo riservata al personale di volo deve essere trattata molto prima della partenza; *c)* tutte le parti dell'aereo accessibili dall'esterno e dove si possono rifugiare insetti vanno trattate pochi istanti prima della partenza; *d)* l'aerosol va preparato nella proporzione di 35 g. per 100 m^3.

La commissione raccomanda poi di fornire tutte le possibili informazioni sulla eventuale resistenza all'aerosol consigliato, onde poter opportunamente modificare la formula standard. Allo scopo vengono fornite in 4 annessi dettagliate informazioni sui metodi per preparare gli aerosol e per saggiarne l'efficienza sui vettori.

L. RIVOSECCHI

NOTIZIE

CONFERENZA INTERNAZIONALE SULLA SANITA' E L'EDUCAZIONE SANITARIA.

Organizzata dall'Unione internazionale per l'Educazione sanitaria in collaborazione con l'Organizzazione Mondiale della Sanità, dal 30 giugno al 7 luglio 1962 avrà luogo a Filadelfia la « Conferenza internazionale sulla sanità e l'educazione sanitaria ».

Tema del programma scientifico della Conferenza è « L'uomo nel suo ambiente ». Esso sarà studiato ad un tempo sia dal profilo dell'amministrazione dei programmi sanitari che dal punto di vista dell'educazione sanitaria.

Il programma prevede *sedute plenarie* e *discussioni tecniche parallele*, che avranno luogo al mattino. Per il pomeriggio sono invece previsti: 1) *gruppi di studio tecnici* sull'educazione sanitaria; 2) *simposi tecnici* (a) sulla ricerca, (b) sulla formazione professionale e (c) sui mezzi di educazione sanitaria; 3) un *centro di consultazione* sulla educazione sanitaria; 4) *visite di studio* di centri medici, sanitari e pedagogici di Filadelfia.

Per ulteriori informazioni rivolgersi al Segretariato della Conferenza:

1962 International Conference on Health and Health Education
800 Second Avenue
New York 17, N. Y., U.S.A.

Direttore responsabile: Dott. E. MOSNA

Tipografico Editrice dell'Orso — Roma, Via dell'Orso, 28